Aus der Medizinischen Klinik der Universität Tübingen
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. med. H. D. Waller

EXPERIMENTELLE UND KLINISCHE UNTERSUCHUNGEN ZUR BEDEUTUNG VON LDH–ISOENZYMANALYSEN IM BLUTSERUM FÜR DIE DIAGNOSTIK MALIGNER ERKRANKUNGEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Wolfgang Hetzer
aus Sindelfingen

1974

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546514_0067

Aus der Medizinischen Klinik der Universität Tübingen
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. med. H. D. Waller

EXPERIMENTELLE UND KLINISCHE UNTERSUCHUNGEN ZUR BEDEUTUNG VON LDH–ISOENZYMANALYSEN IM BLUTSERUM FÜR DIE DIAGNOSTIK MALIGNER ERKRANKUNGEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Wolfgang Hetzer
aus Sindelfingen

1974

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan : Prof. Dr. E. Körber

1. Berichterstatter : Priv. Doz. Dr. Chr. Fröhlich

2. Berichterstatter : Prof. Dr. W. Dölle

FOTO - SCHNELLDRUCK Hans - Joachim Köhler - 74 TÜBINGEN - Neue Strasse 11

I N H A L T

		Seite
I.	Einleitung	1
II.	Problemstellung der Arbeit	9
III.	Methodik	11
IV.	Allgemeine Bemerkungen zur Statistik	14
V.	Untersuchungsmaterial und Auswertungsmethodik	15
VI.	LDH Isoenzyme im Serum	19
VII.	Isoenzyme von Tumorgewebscytolysaten	24
VIII.	Unterschiedliche Eliminationsraten von einzelnen Isoenzymfraktionen des Serums	32
IX.	Vergleichvon Tumor- und Serum-LDH bei den Malignomträgern deren Serum den Verteilungstyp C aufwies	34
X.	Übersicht über das untersuchte Krankengut	45
XI.	Serum LDH-Typ C bei den einzelnen Malignom-Erkrankungen	47
XII.	Untersuchungen zur Sensitivität des S-LDH Typ C	50
XIII.	Zusammensetzung des Zahlenmaterials unter besonderer Berücksichtigung des Typ C	59
XIV.	Verlaufsbetrachtung	62

Seite

XV. Klinisch-diagnostische Bedeutung des Serum-LDH Typ C. 71

XVI. Untersuchungen zur Spezifität des S-LDH Typ C. 74

XVII. Diskussion 81

XVIII. Zusammenfassung 87

I. EINLEITUNG

Bereits 1928 postulierte Warburg (84) einen Anstieg der Aktivität der glykolytischen Enzyme im Serum von Tumorträgern, weil nach seinen Beobachtungen die glykolytische Aktivität von Tumorgewebe größer als die von normalem Gewebe war. Dies bewies er in späteren Untersuchungen selbst, unter anderem durch Experimente mit tumortragenden Ratten (85).

Ebenfalls 1930 publizierte Kay (44) eine Arbeit, in der er auf die Bedeutung der Aktivitätsbestimmung vonSerumenzymen für die Diagnostik von Malignomerkrankungen aufmerksam machte. Er wies den Zusammenhang einer Erhöhung der alkalischen Phosphatase im Serum mit Knochentumoren nach. Starke Impulse verlieh der gesamten Forschung 1940 die Veröffentlichung von Gutmann et al. (28), die eine Erhöhung der Aktivität der sauren Serumphosphatase bei Trägern von Prostatacarcinomen feststellten.

Wegen der hohen glykolytischen Kapazität der neoplastischen Zelle konzentrierte sich die weitere Forschung vornehmlich auf die Enzyme der glykolytischen Reihe. Unter diesem Blickwinkel wurden seither zahlreiche experimentelle und klinische Untersuchungen mit malignen Tumoren durchgeführt. Als klinisch interessant erwies sich hierbei die außerordentlich häufige Aktivitätserhöhung von Serumenzymen der Glykolyse bei Malignomerkrankungen (Lit. bei Hess 34).

Widersprüchliche Ergebnisse brachten Untersuchungen zum Nachweis der Herkunft erhöhter Serumenzymaktivitäten bei Malignomträgern aus dem Tumor selbst. Auf Grund eines parallelen Verhaltens von Serumaktivitäten und Tumorbefund unter operativer, zytostatischer und radiologischer Behandlung,halten einige Autoren (4,10,25,44,45,74,75,86,106) die Enzymherkunft aus dem Tumor für wahrscheinlich, andere, insbesondere der Arbeitskreis um Hoch-Ligeti (39), können auf Grund ihrer Unter-

suchungsergebnisse diese Ansicht nicht teilen. Die Lactat=dehydrogenase betreffend, stellten Hsieh et al. (41) fest, daß bei Männern mit malignen Tumoren die Serum - LDH Aktivität anstieg, gleichgültig, ob der Tumor transplantiert oder induziert worden war. Ähnliche Ergebnisse publizierte Bodansky (11), der bei tumortragenden Ratten eine Aktivitätszunahme sowohl der S-LDH,als auch der Gewebs-LDH in Tumorgewebe und Leber fand. Betz und Lelievre (6) wiesen 15 Tage nach Implantation von Sarkom I bei Mäusen einen S-LDH Anstieg nach. Zimmermann und Weinstein (105) fanden bei Malignomträgern etwa gleich häufig Aktivitätserhöhungen der S-LDH wie auch normale S-LDH Werte.

Völlig geklärt konnte die Frage, Warum bei Tumorerkrankungen einmal die S-LDH erhöht und einmal nicht erhöht ist, nicht werden. Jedoch scheinen einzelne Faktoren, wie z. B. die Art des Tumorgewebes und der Nekrosegrad in ihm, sowie Tumormasse und Tumorwachstum von Bedeutung zu sein (4, 37, 43, 52, 58, 85, 107). Des weiteren scheint die Lokalisation des Tumors besonders unter dem Aspekt seiner Vaskularisation und eventueller entzündlicher Begleiterscheinungen von Wichtigkeit zu sein. (58, 70). Auch die Vermutung, die Serumaktivität sei durch den LDH- Gehalt des Tumorausganggewebes stark beeinflußt,konnte nicht verifiziert werden. Zum Beispiel wiesen Patienten mit Lungencarzinomen zu einem hohen Prozentsatz erhöhte S-LDH auf, obwohl das Lungengewebe selbst relativ LDH arm ist (25, 67).Weitere Untersucher (40, 86, 102) kommen bei Tumorträgern unterschiedlicher Malignome zu divergierenden Ergebnissen.

Mayr und Schweitzer (56) halten zum Auftreten von erhöhter S-LDH- Aktivität Metastasen für notwendig, andere Autoren halten Metastasen nicht für erforderlich (49, 70, 86). Verschiedentlich wird eine Sonderstellung der Lebermetasta=

sen hervorgehoben (86, 102).

1961 gelangten MERTEN und SOLBACH (58) in einer ausgedehnten klinischen Untersuchung, die 26 verschiedene Enzyme umfaßte, zu dem Ergebnis, daß bei Tumorträgern eine signifikante Enzymerhöhung nur für folgende Enzyme nachweisbar war: LDH, Phosphogluco-Isomerase, Triosephosphat-Isomerase, Malta-Dehydrogenase. Die Mittelwerte ließen sich jedoch von denen bei entzündlichen Erkrankungen nicht abgrenzen. Begrenzt räumten die Autoren der LDH differentialdiagnostische Bedeutung für die Fragestellung Tumor oder Entzündung ein. Weitere Autoren schloßen sich dieser Ansicht an (1, 27, 34, 70).

Meister (57) zeigte 1950, daß kristalline Rinderherz-LDH zwei elektrophoretisch trennbare Proteine enthält. 1952 fand NEILAND (59), daß beide enzymatische Aktivität besaßen. Jedoch erst Veröffentlichungen des Jahres 1957 (61, 71, 78, 93) ließen die Bedeutung der Heterogenität der LDH erkennen. In den folgenden Jahren setzte eine intensive klinische und experimentelle Forschung auf diesem Gebiet ein. (29, 33, 35, 53, 79, 80, 89, 90)

The Standing Committee on Enzymes of the International Union of Biochemistry (96) empfahl für die unterschiedlichen Fraktionen ein und desselben Enzyms den Begriff: Isoenzyme. Die 1959 von MARKERT und MØLLER (53) vorgeschlagene Bezeichnung "Isozyme" gilt gleichberechtigt.

Mit verfeinerten Methoden der Agar-, Acetat- und Stärkeblock- und Stärkegelelektrophorese gelang es insgesamt 5 LDH Isoenzymfraktionen zu isolieren. Die insbesondere in Europa anerkannte Nomenklatur für die elektrophoretisch auftrennbaren Enzymfraktionen erfolgte auf Vorschlag von WIEME (94).

LDH I : Schnellste anodisch wandernde Fraktion (zwischen Albumin und α_1-Globulin).
LDH II : α_2-Globulin entsprechende Beweglichkeit.
LDH III : zwischen β_1- und β_2-Globulin gelegen.
LDH IV : Lokalisation entsprechend der schnellen μ-Globulin-Fraktion.
LDH V : Lokalisation entsprechend der langsamen μ-Globulin-Fraktion.

Von besonderer Bedeutung war, daß die nach einer Gewebsschädigung in das Serum übertretenden Enzyme bzw. Enzym-Fraktionen dort annähernd in der gleichen Konstellation wie im Ausgangsgewebe nachweisbar waren. Auch die physikochemischen Eigenschaften waren unverändert. Durch Serumuntersuchung war Rückschluß auf das Herkunftsorgan möglich.

Die Möglichkeit ein tumortypisches Serummuster zu identifizieren war gegeben, falls Tumorgewebe durch eine besondere Verteilung der einzelnen LDH-Fraktionen charakterisiert war.

Nach den Untersuchungen der Arbeitskreise um WIELAND (88, 89, 90) und PFLEIDERER (61, 62) sind in menschlichen Geweben vorwiegend 3 Isoenzymverteilungsmuster der LDH anzutreffen:

1.) HERZMUSKELTYP
Betonung der bei der Elektrophorese anodisch wandernden Fraktionen LDH I und LDH II. Besonders bei LDH aus Organen, deren Energiegewinnung vorwiegend unter aeroben Bedingungen stattfindet.

2.) SKELETTMUSKELTYP
Betonung der am weitesten kathodisch warndenden Fraktionen LDH IV und LDH V. Insbesondere bei LDH aus Organen, deren Energiegewinnung vorwiegend unter anaeroben Bedingungen stattfindet.

3.) INDIFFERENZTYP
Betonung der LDH-Fraktionen II, III und IV. Vorkommend in Organen, wie Hoden, Ovar, Lunge, glatte Muskulatur, ect.

Die nach der Auffassung der Autoren herrschende Parallelität zwischen LDH-Isoenzymmuster und Stoffwechsel (89, 90) weisen jedoch zwei der untersuchten Organe (Leber, Erythrocyten) nicht auf.

Nach Strukturuntersuchungen verschiedener Arbeitsgruppen (2, 17, 55) ist jedes LDH-Isoenzymmolekül ein Tetramer, dessen Monomere 4 Polypeptidketten sind. Zwei Typen von Monomere lassen sich unterscheiden (2, 17, 55). Da im LDH-Isoenzymmuster des Herzmuskels und des Skelettmuskels jeweils die entgegengesetzten Monomere dominieren, werden diese H=HEART und M=MUSCLE Monomere genannt. Die unterschiedlichen physikochemischen, immunologischen und kinetischen Eigenschaften (38, 63, 64, 68, 69, 81, 82, 97, 101) ergeben sich für das einzelne Isoenzymmolekül aus den verschiedenen Kombinationen der einzelnen Monomere zum Tetramer. In Kurzschreibweise lassen sich die einzelnen LDH-Fraktionen wie folgt darstellen: LDH I = H_4 , LDH II = H_3M_1, LDH III = H_2M_2, LDH IV = H_1M_3, LDH V = M_4

Verglichen mitdem Tumorausgangsgewebe fanden verschiedene Arbeitsgruppen (3, 12, 26, 62, 87) bei Auftrennungen von Carzinomgeweben eine Verschiebung der LDH-Aktivität zu Gunsten der M-Monomere in Richtung der kathodenwärts sich darstellenden Fraktionen. Diese Verlagerung sehen die Autoren im Zusammenhang mit der malignen Zellentartung und der gesteigerten anaeroben Glykolyse der Tumorzellen. Tumorgewebsuntersuchungen von Malignomen des ZNS (73) ergaben einen mit dem Malignitätsgrad ansteigenden Relativanteil der Fraktion V. GERHARD et. al. (24) berichten ebenfalls über die Zunahme des Relativanteils der Fraktion V bei Tumoren des ZNS, gleichzeitig beobachteten sie bei benignen ZNS Tumoren eine Steigerung des Relativanteils in Fraktion I.

Andere Autoren (39, 76) wiesen Verteilungsmuster bei malignen Tumoren mit Betonung der Hybridfraktionen LDH II, LDH III und LDH IV nach. Ähnliche Isoenzymverteilungsmuster wiesen andere Gruppen (62) für Gewebsauftrennungen menschlicher Föten nach. Weiter sind für die Interpretation des LDH-Verteilungsmusters als Hinweis auf die Stoffwechsellage der jeweiligen Fälle Ergebnisse von GOLDMANN et. al. (26) und ZONDAG (106, 107) bemerkenswert, welche bei Seminomen und Dysgerminomen, sowie in Ovarial- und Prostatatumoren eine Betonung der LDH-Fraktionen I und II fanden. Nach der oben erwähnten Theorie von PFLEIDERER und WACHSMUTH (62) müßte der Energiestoffwechsel von Tumoren mit Praevalenz in den Fraktionen LDH I und LDH II unter aeroben Bedingungen ablaufen. Untersuchungsergebnisse aus der Literatur liegen bislang nicht vor.

Schwierig gestaltete sich die Suche nach einem tumorspezifischen Isoenzymverteilungsmuster im Blutserum von Tumorträgern. Erschwerend ist vor allem die Vielzahl der tumorösen Erkrankungen sowie die Variationsbreite der klinischen Erscheinungsbilder. Wegen der Vielfältigkeit ihrer Versuchsergebnisse bei der Isoenzymbestimmung im Serum von Tumorträgern bestreiten BOHN et.al. (12) jeden zusätzlichen Wert der LDH-Isoenzymbestimmung für die klinische Diagnostik.

Am klarsten erscheinen die im Tierexperiment gewonnen Ergebnisse. Bei Ratten mit Walker Carcinom und induziertem Hepatom konnte im Blutplasma ein dem Tumorgewebe in zufriedenstellender Wahrscheinlichkeit entsprechendes LDH-Verteilungsmuster nachgewiesen werden. (42) Ebenfalls gelang dies bei tumortragenden Mäusen (16).

Aufgrund der Beobachtung, daß bei menschlichen Tumoren die Gewebs-LDH meist einen erhöhten Relativ-Anteil M-LDH aufweist, wurde im Serum eine ähnliche Verteilung erwartet.

Ein Nachweis war jedoch nur höchst selten möglich und im positiven Falle nicht eindeutig gegenüber einer Leberparenchymschädigung auf anderer Basis abgrenzbar. (21, 48). Im Serum menschlicher Tumorträger wurde jedoch häufig eine gesteigerte Aktivität in den Hybridfraktionen LDH II, LDH III und LDH IV beobachtet. Dies war sowohl bei neoplastischen Systemerkrankungen, wie Morbus Hodgkin Lymphosarkomatose u.a. der Fall, als auch bei Haemoblastose und soliden Carcinomen bzw. Sarkomen (3, 13, 22, 48, 50, 60, 76, 87, 99, 100, 103, 106, 107).

Über den Nachweis dieses Verteilungstyps auch bei benignen Erkrankungen liegen nur wenige Hinweise vor. So beschrieb ZONDAG (107) diesen Typ bei einigen Patienten mit Mononucleosis infektiosa, Typhus, Coli-Sepsis, Uterus myomatosus, Blutungsschock und Arzneimittelüberempfindlichkeit. Weiter berichtet FRÖHLICH (22) von einem Fall mit Mononucleosis infektiosa. Die relative Erhöhung der Hybridfraktionen scheint daher kein ausreichend sicherer diagnostischer Hinweis auf das Vorliegen eines malignen Prozesses zu sein. Beachtenswert erscheint die ZONDAGSCHE Beobachtung, daß die Aktivitätszunahme in den Hybridfraktionen bei benignen Erkrankungen im Serum nur kurzzeitig in Erscheinung tritt (107). Parallele Enzymauftrennungen von Serum und Tumor führte bisher lediglich ZONDAG (106, 107) bei zwei Patienten mit Dysgerminom bzw. Seminom durch. In beiden Fällen ließ sich eine Pravalenz der Fraktionen LDH I und LDH II sowohl im Tumorgewebe als auch im Serum nachweisen. Ein kausaler Zusammenhang scheint gegeben, insbesondere weil bei einem dieser Patienten nach Tumorexstirpation eine Normalisierung des Serumerzymmusters beobachtet wurde. Andere Herkunftsquellen infolge begleitender Organschäden wurden in der Arbeit jedoch nicht ausgeschlossen.

Die bisherigen Hypothesen fordern für die Fälle, in denen LDH II - IV im Serum von Tumorträgern erhöht ist zum Beweis des direkten Zusammenhangs von S-LDH und Tumorgewebs-LDH das Vorliegen einer ähnlichen LDH-Verteilung in Serum und Gewebe. Dies scheint jedoch nur bei einem kleinen Teil der Malignome der Fall zu sein (39, 76).

Untersuchungen die einen direkten Zusammenhang bestätigen liegen bislang nicht vor. Ebenso wurde die Frage eines indirekten Zusammenhanges bisher nicht experimentell geprüft. Derartige Untersuchungen wären jedoch zum Nachweis einer Spezifität eines eventuell tumortypischen Verteilungsmusters der LDH-Isoenzyme von besonderem Interesse.

II. PROBLEMSTELLUNG DER ARBEIT

Die Tumordiagnostik mit Hilfe von Serumenzymbestimmungen ist bis heute auf die durch Tartrat hemmbare saure Serumphosphatase, zur Diagnose eines Prostatacarcinoms, beschränkt (28). Aus den oben erwähnten Gründen scheint eine Erweiterung der diagnostischen Palette bei Tumoren noch am ehesten die Laktatdehydrogenase zu ermöglichen.

Verschiedene Autoren wiesen bei Tumorträgern eine Aktivitätsvermehrung der S-LDH nach (6, 11, 27). Diese Feststellung erwies sich jedoch als sehr unspezifisch. Nahezu alle Organe des menschlichen Körpers enthalten LDH. Daher erfolgt bei sehr vielen benignen Erkrankungen, die mit einer Organschädigung einhergehen, bzw. eine Veränderung der Zellwandpermeabilität bedingen, eine LDH Ausschwemmung in das Serum. Dadurch ist die Aussagekraft der S-LDH Gesamtaktivitätserhöhung für die Differentialdiagnose maligne oder benigne Erkrankung nur gering (8, 19, 21, 66, 91, 99, 100, 106, 107).

Differentialdiagnostisch interessant wurde die S-LDH jedoch durch die Entdeckung ihrer Heterogenität. Sollten Malignome, wie eine Reihe von Organen, durch einen besonderen Isoenzym-Verteilungstyp gekennzeichnet sein, so ergab sich die Möglichkeit, eine durch Tumoren bedingte Aktivitätserhöhung von einem durch sonstige Ursachen bedingten S-LDH Aktivitäts-Anstieg zu unterscheiden.

Die Isoenzymzusammensetzung von Malignomgeweben wird unterschiedlich beschrieben. Drei Hauptgruppen sind zu erkennen. Gegenüber dem Tumorausgangsgewebe wird sowohl eine Aktivitätsverschiebung in Richtung auf die Fraktionen LDH IV und LDH V (24, 62, 73, 90) als auch eine besondere Betonung der Hybridfraktionen LDH II - IV angegeben (39, 76, 107). Selten wird eine Aktivitätszunahme in den

Fraktionen LDH I und LDH II gefunden (107). Eine klinische Verwertbarkeit resultierte aus diesen Beobachtungen bislang nicht, da ähnliche Verteilungsmuster auch im Blutserum von Patienten mit nicht tumorösen Erkrankungen nachgewiesen wurden.

Die vorliegende Untersuchung befaßt sich mit dem Problem eines "tumorspezifischen " LDH-Isoenzymverteilungsmuster im Serum und dessen Abgrenzung gegenüber den bei benignen Erkrankungen auftretenden Verteilungstypen. Des weiteren wurde der Zusammenhang von Malignom LDH und Serum LDH untersucht.

Die Untersuchungen erfolgten im Rahmen folgender Unterabschnitte:

a) Häufigkeitsverteilung bestimmter Isoenzymverteilungsmuster der LDH bei malignen und benignen Erkrankungen.

b) Prüfung, ob eventuelle tumortypische Muster bestimmte klinische Voraussetzungen haben und die Feststellung von Täuschungsmöglichkeiten.

c) Prüfung des Zusammenhangs von Serum-LDH und Tumor-LDH durch parallele Analysen von Blutserum und Tumorgewebe bei Tumorträgern.

d) Untersuchung der Vorgänge, die den Zusammenhang zwischen Tumor-LDH und Serum-LDH beinflussen.

III. METHODIK

1. Gewinnung des Serums:

Jeweils ca. 10 cm^3 vom nüchternen Patienten gewonnenes Blut wurde nach seiner Gerinnung 5 min. bei 5000 U/min. zentrifugiert. Das überstehende Serum wurde bis zur weiteren Verarbeitung bei 4° C gelagert. Sowohl die LDH - Isoenzymbestimmung als auch die Bestimmung der LDH-Gesamtaktivität erfolgte in der Regel im Verlauf der nächsten 24 Stunden. Ausnahmen werden in der Besprechung der Ergebnisse besonders erwähnt.

2. Gewinnung des Tumorgewebes:

Vorwiegend wurde das Gewebsmaterial durch Obduktion 24 - 28 Stunden post mortem gewonnen.[++] Ein Teil konnte frischem Operationsmaterial entnommen werden[++]. (Eigene Versuche bestätigen die Ergebnisse von PFLEIDERER und WACHSMUTH (62), wonach während der ersten 72 Stunden nach Entnahme bzw. post mortem keine meßbare Isoenzymverschiebung stattfindet).

3. Messung der LDH-Aktivität:

Die Bestimmung der LDH-Aktivität im Blutserum und Cytolysat wurde nach der Methode von KUBOWITZ und OTT (7, 47) durchgeführt. Bei allen experimentellen Untersuchungen sind die angegebenen Werte (I.E.) Mittelwerte aus Doppelbestimmungen. Meßbedingungen (Endkonzentrationen): $NADH_2$ 0,428 mM, Pyruvat 0,860 mM , Triaethanolaminpuffer 50mM, EDTA 5 mM, pH 7,5,t 25° C. Bestimmungen der LDH Aktivität des Serums erfolgten in einfachen Analysen.

++ An dieser Stelle sei Herrn Prof. Dr. med. A. BOHLE (Direktor des Pathologischen Institutes der Universität) sowie Herrn Prof. Hofrat Dr. med. W. DICK und Herrn Prof. Dr. med. L. KOSLOWSKI (ehemaliger und jetziger Direktor der Chirurgischen Universitätsklinik) für die Erlaubnis zur Entnahme des Materials gedankt.

4. Aufbereitung des Tumorgewebes:
Das Tumormaterial wurde in physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und abgewogen. Anschließend wurde das Gewebe in 2 ml Phosphat-Puffer pH 7,4, 1/15 mol + 2 ml Ringer Lösung mittels des Ultra Turrax Gerätes im Eisbad 3 x 40 sec. mit je 1 Min. Pause zytolisiert. Das Homogenisat wurde in der Kältezentrifuge mit 35.000 g zentrifugiert. Die Enzymbestimmungen erfolgten im Überstand. Die Fermentaktivitäten werden angegeben in internationalen Einheiten (IE) (uM (Substrat) x min^{-1} x l^{-1} (25^{o} C)) /mg lösliches Protein.

5. Isoenzymauftrennung:
Die LDH Isoenzyme wurden elektrophoretisch im Agargel nach einer von WIEME et.al. (91,92, 95) inaugurierten und von FRÖHLICH (21) modifizierten Methode aufgetrennt. Für die Elektorphorese wurde die Immunelektrophorese-Apparatur der Firma LKB, Stockholm, in der gleichzeitig 18 Bestimmungen durchgeführt werden können, benutzt. Als Agar fand ausschließlich der Special Agar Noble (Difco Laboratories, Detroit, USA) Verwendung. Als Gleichrichter diente das "Duostat" Gerät der Firma Beckmann. Bei konstanter Klemmenspannung von 220 V betrug die Auftrenndauer 3,5 Stunden. Wegen der Gefahr der Agar Überwärmung wurde die Elektrophorese im Kühlraum bei + 3^{o} bis + 4^{o} C vorgenommen.

6. Färbung der Elektropherogramme:
Nach einem ursprünglich histochemischen Verfahren (30, 31, 32) wurden die LDH Isoenzymfraktionen dargestellt. Die Färbung erfolgte unter Lichtabschluß im Wärmeschrank bei 37^{o} C in einer wie folgt zusammengestellten Lösung:

0,5 m Natrium-Lactat	15 ml
0,1 m Phosphat-Puffer pH 6,0	25 ml
Aqua dest.	110 ml
0,05 m $MgCl_2$	1,5 ml
Phenacin-Meta-Sulfat	30 mg
p-Nitroblau-tetrazolium-chlorid	75 mg
N A D^+	50 mg
0,1 m NaCN	15 mg

Die Färbedauer betrug 85 min. Nach Fixierung und Trocknung der Elektropherogramme (92) erfolgte ihre Auswertung in einem Extinktions-Integralschreiber der Firma Zeiss. Hierbei wurde die Stärke der einzelnen Isoenzymfraktionen in % der Gesamtaktivität ermittelt.

IV. ALLGEMEINE BEMERKUNGEN ZUR STATISTIK

Bei der statistischen Analyse des Untersuchungsmaterials ergaben sich bezüglich der statistischen Voraussetzungen folgende Schwierigkeiten:

Homogenität bestand im untersuchten Personenkreis lediglich bezüglich der Malignität der Erkrankung. Diese Diagnose ist stets bioptisch bzw. autoptisch gesichert. Keine Homogenität bestand im Hinblick auf Alter, Geschlecht und Körperzustand der einzelnen Patienten. In einzelnen Untersuchungen bestand auch Inhomogenität bezüglich des histologischen Tumortyps, der Lokalisation des Tumors, des Stadiums der Erkrankung, der Verlaufsdauer, der bereits begonnenen Therapie und in einigen Fällen bezüglich zusätzlicher Erkrankungen. Des weiteren unterschieden sich die Beobachtungszeiträume, bedingt durch unterschiedliche Länge der Klinikbehandlung, Verlegung in andere Kliniken, bzw. Tod.

Um jede, auch unbewußte (statistische) Manipulation auszuschalten, wurden die in die Statistik eingegangenen Werte jeweils auf die Erstbefunde begrenzt. Die Datenbasis wurde dadurch eingeengt, andererseits jedoch die für die biologische Statistik notwendige Selektionshomogenität erzielt (72).

Für die Unterstützung und Beratung in allen Fragen der statistischen Berechnungen sei an dieser Stelle Frau Prof. Dr. Maria-Pia Geppert, Leiterin des Instituts für Medizinische Biometrie, sowie ihren Mitarbeitern Frau Dr. K. Boehme und Herrn Dr. R. Rietsch gedankt.

V. UNTERSUCHUNGSMATERIAL UND AUSWERTUNGSMETHODIK

Bei insgesamt 328 Patienten wurde das LDH Isoenzymmuster des Blutserums bestimmt. Histologisch konnte bei sämtlichen Patienten ein tumoröser Prozeß oder eine Haemoblastose gesichert werden. Zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung war die Malignomerkrankung bei einem Teil der Patienten lediglich vermutet und in einigen Fällen bestand zum Zeitpunkt der Erstauftrennung kein Verdacht auf einen malignen Prozeß. Zum Vergleich dienten 2394 während desselben Zeitraumes durchgeführte Isoenzymbestimmungen von 1536 Patienten mit benignen Erkrankungen. Art und Zahl der untersuchten Seren war durch die Einsendungen der einzelnen Klinikstationen und durch die Laborkapazität bestimmt.

In tierexperimentellen (42) und klinischen (106, 107) Untersuchungen wurde auch eine Abhängigkeit der Veränderung des LDH-Isoenzymverteilungsmusters vom Stadium des malignen Prozesses hingewiesen. Um einen eventuellen Zusammenhang im vorliegenden Krankengut erfassen zu können, wurden die einzelnen LDH-Isoenzymbestimmungen entsprechend dem Stadium der Krankheit gruppiert. Drei Krankheitsstadien wurden unterschieden:

Stadium I : beginnendes Krankheitsbild
Stadium II : fortgeschrittenes Krankheitsbild
Stadium III: Endstadium

Nur die neoplastische Grundkrankheit wurde zur Stadieneinteilung berücksichtigt. Wesentlichstes Kriterium war die Tumorausbreitung. Komplikationen wurden nur bei direktem Zusammenhang mit dem tumorösen Prozeß einbezogen. In einigen Fällen war den Krankenunterlagen die Ausbreitung des Tumors zum Zeitpunkt der Erstauftrennung nicht mit Sicherheit zu entnehmen. Die Zuordnung zu einem bestimmten Stadium war in diesen Fällen nur näherungsweise möglich. Besonders gilt dies für maligne Systemerkrankungen

wie Morbus Hodgkin, Reticulose etc. Grundsätzlich wurden diese Auftrennungen dem fortgeschritteneren Krankheitsstadium zugezählt. Dadurch wurde ein fälschlicherweise zu hoher Informationswert der LDH Isoenzymauftrennungen vermieden.

Mit fortschreitender Erkrankung während eines längeren Beobachtungszeitraumes mußten die Auftrennungen eines Patienten verschiedenen Stadien zugeordnet werden (328 Patienten - 539 Stadienerstauftrennungen).
Folgende Kriterien charakterisieren die einzelnen Stadien:

STADIUM I

a) lokal begrenztes Wachstum solider Malignome.
b) maligne Systemerkrankung mit regional begrenztem tumorösen Wachstum ohne haematologische-oder Organkomplikationen. Morbus Hodgkin Stadium Ia, Ib, IIa.
c) Chronische lymphatische und chronisch-myeloische Leukämien ohne haematologische oder Organkomplikationen bei gutem Allgemeinzustand des Patienten.

STADIUM II

a) Solide Malignome mit Lymphknotenbefall in verschiedenen Körperregionen, jedoch ohne schwere krankheitsbedingte Komplikationen und wesentliche Einschränkung des Allgemeinzustandes.
b) Maligne Systemerkrankungen mit haematologischen bzw. Organkomplikationen ohne direkte Lebensgefährdung. Morbus Hodgkin Statium IIb, IIIa, IIIb, sowie ein Patient mit Stadium IVa (costaler Destruktionsherd seit 1 Jahr in unveränderter Form).
c) Chronisch lymphatische und myeloische Leukämie mit Beeinträchtigung der Erythro-, Myelo-, und Thrombopoese ohne sonstige schwere Komplikationen.
d) Akute Paraleukoblastosen im ersten nicht ad exitum führenden Krankheitsschub.

STADIUM III

a) Erkrankungen an soliden Malignomen mit ausgedehnter Metastasierung und schwerer Beeinträchtigung des Allgemeinzustandes. Alle erfaßten Patienten verstarben im Verlauf der folgenden drei Monate. Ein Patient mit einem lokal sehr ausgedehnten Bronchialcarcinom ohne Fernmetastasen (exitus letalis innerhalb von 14 Tagen).
b) Maligne Systemerkrankungen mit generalisiertem neoplastischen Wachstum, schweren haematologischen Komplikationen oder durch Tumorwachstum bedingte Organkomplikationen. Die Patienten dieser Gruppe verstarben alle innerhalb der folgenden drei Monate. Patienten mit Morbus Hodgkin des Stadiums IVa und IVb.
c) Chronische myeloische Leukämie im terminalen Myeloblastenschub. Einmal chronische Lymphadenose mit ausgedehntem infiltrativen tumorösen Wachstum in verschiedenen Organen. Lymphadenose-Patienten mit schweren Krankheitskomplikationen, die im Verlauf der nächsten zwei Monate starben.
d) Akute Paraleukoblastosen mit exitus letalis innerhalb des ablaufenden Krankheitsschubes.

Bei den 328 Malignom-Patienten wurde im Laufe der Untersuchungen 1028 Serumenzymanalysen vorgenommen. Bei jeder Analyse handelt es sich um Mehrfachauftrennungen, zumindest um Doppelauftrennungen. Zur Vermeidung von Verzerrung der Häufigkeitsverteilung der S-LDH-Verteilungsmuster durch mehrfachen Nachweis desselben Verteilungstyps bei demselben Patienten in einem Stadium,wurde im weiteren jedes in einem Krankheitsstadium bei einem Patienten auftretende Verteilungsmuster nur einmal berücksichtigt. Unter dieser Voraussetzung reduzierte sich die Gesamtzahl der auszuwertenden Analysen von 1028 auf 593. Im folgenden wurden diese Auftrennungen als PST-Auftrennungen bezeichnet. (= pro Patient und Stadium jeder Verteilungs-Typ nur einmal).

Unterschieden wurden S-LDH-Verteilungsmuster vom Typ A, Typ B und Typ C (Einzelheiten siehe Kapitel:LDH Isoenzymmuster im Serum). Auftrennungen mit "normaler"Verteilung, sowie Auftrennungen die wegen methodischer Unzulänglichkeiten bzw. technischer Fehler "nicht auswertbar" waren, wurden ebenfalls als gesonderte Gruppe behandelt. Unter der Bezeichnung "sonstige Muster" wurden Enzymogramme zusammengefaßt, die weder die Normalverteilung aufwiesen, noch einem der bekannten pathologischen Enzymmuster entsprachen. Zum Teil dürfte dies durch die gleichzeitige Schädigung mehrerer Organe mit unterschiedlicher Isoenzymverteilung bedingt sein, zum Teil durch ungenügende Enzymausschwemmung. Andererseits sind bei einigen Patienten bestimmte Muster regelmäßig nachweisbar, sodaß eine Malignomspezifität nicht grundsätzlich ausgeschlossen werden darf. Die letzte Gruppe bilden Auftrennungen, die weder sicher die Normalverteilung, noch eine der vorher erwähnten Verteilungen der LDH Isoenzyme aufwiesen. Diese Enzymmuster sind in der Gruppe "nicht sicher pathologische" Enzymverteilung aufgeführt.

Bei Tumorgewebscytolysaten von 38 verschiedenen Patienten wurden LDH Gesamtaktivität und LDH Isoenzymverteilungsmuster bestimmt. Eine Differenzierung verschiedener Vertei lungstypen wurde nicht vorgenommen. Die Homogenität der Patientengruppe war lediglich im Vorliegen eines Malignoms begründet. Diese Diagnose wurde jeweils auch histologisch belegt.

VI. LDH ISOENZYMMUSTER IM SERUM

Die Literatur läßt die LDH Isoenzyme des Serums betreffend eine allgemein verbindliche Bezeichnung oder genaue Definition bestimmter Muster offen. Gleichwohl werden Besonderheiten der S-LDH bei Leberparenchymschädigungen (8, 19, 21, 92, 98, 103, 107), Myocardinfarkten (8, 19, 92, 98, 103), haemolytischen Erkrankungen (34, 98, 107) und neoplastischen Prozessen (13, 22, 48, 60, 66, 76, 99, 103, 104, 106, 107) von verschiedenen Autoren übereinstimmend beschrieben.

LEHMANN et.al. (48) verwandten zur Bezeichnung unterschiedlicher Verteilungsmuster römische Ziffern. In der vorliegenden Arbeit wird diesem Vorschlag nicht gefolgt, da römische Ziffern bereits zur Bezeichnung der einzelnen Isoenzymfraktionen herangezogen werden. (106) Weiter ist die Eigenständigkeit einiger herausgestellter Gruppen bislang nicht erwiesen. Aus arbeitstechnischen Gründen sind nachfolgend die häufigsten im Zusammenhang mit bestimmten Krankheitsbildern im Serum aufgetretenen LDH-Verteilungsmuster als Typ A, Typ B und Typ C bezeichnet. (siehe Abb. 1 - 3)

Vorkommen

Typ A :	frische Myocardschäden, haemolytische Erkrankungen, (selten: akute Nierenparenchymschäden, Seminom, Dysgerminom)
Typ B :	Floride Leberparenchymschäden
Typ C :	Malignom -Erkrankungen, Haemoblastosen (selten: passager (meist) bei verschiedenen benignen Erkrankungen.

Die dem Typ C entsprechende Verteilung bezeichnen LEHMANN et.al. (48) als Indifferenzmuster. Wesentlichstes Kriterium war hierbei die Aktivitätserhöhung der LDH-Fraktionen II - IV. Diese ist nach eigenen Beobachtungen am sichersten durch

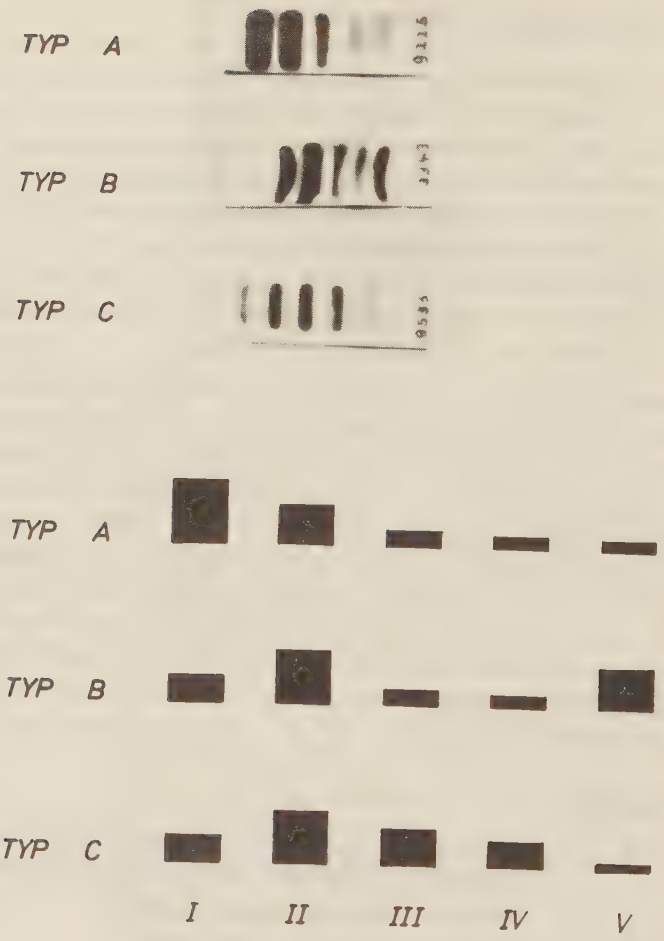
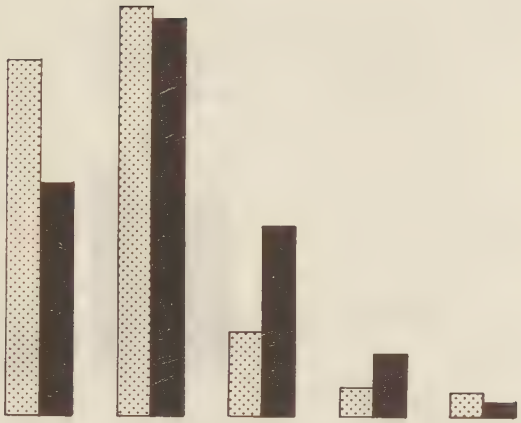


Abb. 1: LDH Serumverteilungsmuster Typ A, Typ B und Typ C.

oben: Originalauftrennungen

unten: Schematische Darstellungen der einzelnen Typen.



	I	II	III	IV	V
NORMAL	39,4	45,3	9,4	3,1	2,8
TYP C	25,81	44,15	21,23	6,94	1,87

Abb. 2 : Vergleichende Darstellung (maßstabgerecht) der Normalverteilung und des Typ C. (Zahlenwerte für Typ C = Durchschnittsberechnung 100 Patienten)

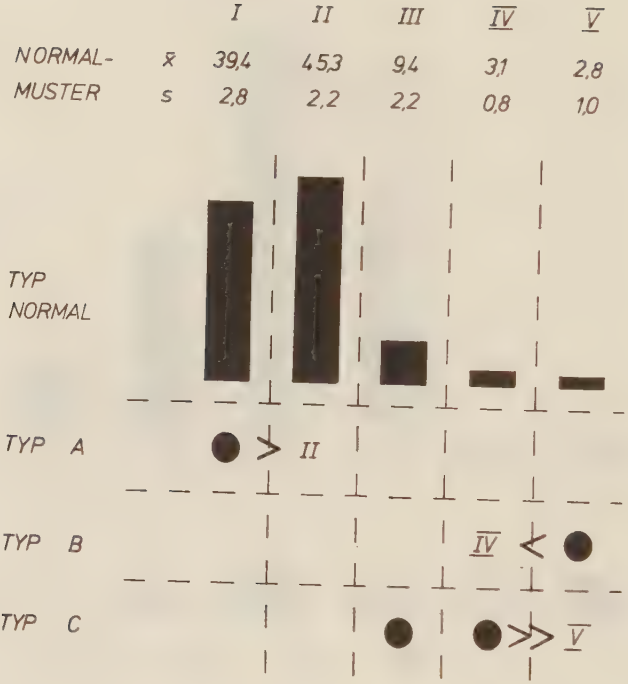


Abb. 3 : Schematische Darstellung der Hauptkriterien für die Differenzierung der Serummuster vom Typ A, B und C. Mit einem Punkt sind die Fraktionen mit deutlicher Aktivitätszunahme gekennzeichnet. (Normalverteilung in Zahlen und maßstabgerecht in Säulendarstellung.)

den Vergleich der Fraktionen LDH IV und LDH V zu bestimmen. Da mit der Abnahme der Relativ-Anteile der einzelnen Fraktionen die Streubreite bei der Bestimmung der Fraktionsstärke größer wird, wurde zur Anerkennung des Typ C ein um so größerer Unterschied in der Stärke der LDH Fraktionen IV und V gefordert, je geringer der Anteil der LDH V Aktivität an der Gesamtaktivität des Enzyms war. Bei innerhalb der Norm liegender Serumaktivität des Enzyms kann diese Differenz nur bei optimaler Auftrenntechnik gesichert werden. War dies nicht möglich so wurde die Auftrennung nicht gewertet.

Exakte Definition des S-LDH Typ C:
Erhöhung der LDH Fraktionen II - IV, wobei die Fraktion IV $\gg$ V sein muß. Betrug die Fraktion V 1 - 2 % der Gesamt-S-LDH, so mußte die Fraktion IV mindestens 3x Fraktion V entsprechen. War der prozentuale Anteil von Fraktion V $\geqq$ 3 %, mußte Fraktion IV einen mindestens doppelt so hohen prozentualen Anteil aufweisen.

VII. ISOENZYME VON TUMORGEWEBSCYTOLYSATEN

Insgesamt wurde Tumormaterial von 38 Patienten untersucht. Histologisch gesehen und nach der Organlokalisation handelte es sich um sehr unterschiedliche Tumoren.

1.) In der Übersichtstabelle 1 sind die einzelnen Fälle unter dem Gesichtspunkt des unterschiedlichen prozentualen M-LDH-Anteils aufgeführt. Auffallend ist, daß lediglich bei zwei Tumoren der H-LDH-Anteil überwiegt, bei 36 Tumoren jedoch der M-LDH Anteil dominiert (94,7 %). Diese in der Tendenz starke Einheitlichkeit der LDH-Verteilungsmuster erscheint besonders bemerkenswert im Hinblick auf die unterschiedliche Genese des Tumorgewebes, da von sonstigen Körpergeweben her eine große Verschiedenartigkeit der Isoenzymverteilungsmuster bekannt ist. Andere Arbeitsgruppen kamen zu ähnlichen Ergebnissen (24, 26, 62, 73, 107). Verschiedene Autoren sehen in einer Erhöhung des M-LDH-Anteils im Tumorgewebe gegenüber dem Ausgangsgewebe das kennzeichnende Charakteristikum der malignen Entartung des Gewebes (26, 73). Diese Hypothese kann durch die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung gestützt werden.

2.) Eine Beurteilung inwieweit sich die LDH Isoenzymzusammensetzung in dem untersuchten Tumorgewebe gegenüber dem Tumorausgangsmaterial wirklich geändert hatte, kann nicht vorgenommen werden. Vergleichsuntersuchungen dieser Gewebe liegen nicht vor und sind auch aus der Literatur nicht bekannt. Als Vergleichsbasis können in der Literatur mitgeteilte Untersuchungen an Homogenisaten von Gewebsverbänden (Lunge, Leber, Magenwand, Oesophaguswand, ect.)nicht herangezogen werden. Bei diesen Enzymmustern handelt es sich jeweils um das Sammelmuster einer Anzahl von Einzelmustern sehr unterschiedlicher Gewebsanteile.

Tab. 1 LDH-Isoenzymmuster in Serum-und Tumorgewebe bei Malignomkranken

Nr.	Pat.	Diagnose	Malignom - LDH						Serum - LDH	
			I	II	III	IV	V	% M-LDH	IE	Typ
1.	Eh.	Malign. Melanom	16	25	29	18	12	46,25	332	C
2.	Pe.	Magenca. (Adeno-, medullär)	6	27	37	25	5	49,50	-	N
3.	Schn.	Malignes Melanom	8	24	34	25	9	50,75	7680	C
4.	Fr.	Morb. Hodgkin	0	22	45	31	2	53,25	309	C
5.	Du.	Morb. Hodgkin	6	22	35	26	11	53,50	298	U
6.	Hu.	Rectumca. (Adeno-)	2	21	42	30	5	53,75	-	N
7.	Da.	Morb. Hodgkin	5	22	33	30	10	54,50	434	C
8.	Ba.	Morb. Hodgkin	7	13	41	31	8	55,00	-	U
9.	Ri.	Magenca. (Adeno-)	5	20	35	29	11	55,25	-	N
10.	Mo.	Sarkom (polymorphz. osteopl.)	3	20	35	32	10	56,50	-	-
11.	Ho.	Lungenca. (Plattenepithel, nicht verhornend)	3	18	33	29	17	59,75	468	C
12.	Schmu.	Chemodektom	5	18	30	27	20	59,75	-	U
13.	Kö.	Retikulosarkomatose	3	22	27	28	20	60,00	600	C
14.	Fr.	Retikulosarkomatose	2	19	29	31	19	61,50	356	U
15.	Pe.	Magenca. (solide, polymorphz.)	4	13	33	27	23	63,00	-	B

Nr.	Pat.	Diagnose	Malignom - LDH						Serum - LDH	
			I	II	III	IV	V	% M-LDH	IE	Typ
16.	Li.	Mammaca. (solide, scirrhös)	5	15	25	23	32	65,50	-	U
17.	La.	Rectumca. (Adeno-)	3	9	30	36	22	66,25	217	U
18.	He.	Morb. Hodgkin	0	12	28	39	21	67,25	132	U
19.	Gi.	Verschleim.Adenoca. (Magen?)	4	15	19	28	34	68,25	225	U
20.	He.	Bronchialca. (stark anapl. solide)	6	9	22	28	35	69,25	-	-
21.	We.	Malignes Melanom	2	13	21	31	33	70,00	-	N
22.	Pr.	Rectumca. (Adeno-)	4	9	21	33	33	70,50	618	C
23.	Sa.	Mammaca. (einf.solide)	5	11	15	34	35	70,75	-	N
24.	Ba.	Magenca. (Adeno-)	1	9	25	35	30	71,00	-	N
25.	Schmi.	Sarkom (spindelzellig)	3	8	22	32	35	72,00	-	N
26.	Ri.	hypernephroides Ca.	1	5	26	39	29	72,50	100	U
27.	Schl.	Mammaca. (scirrhös)	1	7	29	23	40	73,50	-	U
28.	Vi.	Alveolarzellca.	2	7	15	30	46	77,75	-	U
29.	El.	Colonca. (undiff. stark anapl.)	0	6	16	35	43	78,75	-	U
30.	Mo.	Rectumca. (Adeno-, verschleim.)	0	8	13	38	41	78,00	132	N
31.	Bü.	Verhornendes Platten-ep.ca.(Parotisbereich)	0	6	16	35	43	78,75	-	U

Nr.	Pat.	Diagnose	Malignom - LDH I	II	III	IV	V	% M-LDH	Serum - LDH IE	Typ
32.	Ab.	Morb. Hodgkin	0	2	16	45	37	79,25	156	U
33.	Re.	Pancreasca.(Adeno-)	3	5	9	27	56	82,00	414	N
34.	Wa.	Oesophagusca.(verhorn. Plattenepithel)	0	2	14	36	48	82,50	-	U
35.	Wi.	Gallenblasenca. (stark anapl.)	0	2	10	38	50	84,00	-	M
36.	Bu.	Rhabdo-myosarkom	2	2	12	18	66	86,00	-	-
37.	Schn.	Phäochromocytom	0	1	6	38	55	86,75	-	U
38.	v.Oh.	Pankreas-Ca. (stark anapl.)	0	0	4	11	85	95,25	162	U

N = S-LDH - Normalverteilung

U = atypisches S-LDH-Verteilungsmuster

S-LDH-Verteilungstyp B und C. s. Abb. 1 und Abb. 2

3.) Das Ergebnis von ZUPPINGER, RICHTERICH und ROSSI (108), wonach der LDH V Anteil im Tumorgewebe über 30 % der Gesamtaktivität betragen soll, konnnte nicht bestätigt werden. Nur 19 Tumoren (50 %) der untersuchten Serie wiesen LDH V Anteile von mehr als 30 % auf. Insgesamt fällt auf, daß in der geordneteb Übersicht bezüglich eines Zusammenhangs von M-LDH-Anteil und Tumorhistologie keine Klarheit zu gewinnen ist.

4.) Bei der Gegenüberstellung des M-LDH-Anteils der Sarkome und Carcinome im Mittelwertsvergleich unabhängiger Daten mit Hilfe des t-Testes ergab sich für beide histologisch differenten Gruppen keinerlei Unterschied, sondern hochgradige Homogenität. (Signifikanzniveau $2\alpha = 0,5$) Von der Gruppe der übrigen Tumoren hoben sich, bezogen auf den M-LDH Anteil, noch die anaplastischen Carcinome (Signifikanzniveau $2\alpha = 0,05$) und die Tumoren der Patienten mit S-LDH Typ C ab (Signifikanzniveau $2\alpha = 0,005$). Da die anaplastischen Carcinome sich von der gesamten Restgruppe abheben, wäre es denkbar, einen Zusammenhang zwischen dem hohen Malignitätsgrad dieses histologischen Typs und der LDH-Zusammensetzung zu sehen. Gegen eine solche Annahme spricht jedoch ihre geringe Zahl und die fehlende Übereinstimmung der LDH-Zusammensetzung anderer sehr maligner Tumoren.

Überraschend heben sich die Tumoren der Patienten mit S-LDH Typ C von der Resttumorgruppe ab. Histologisch handelt es sich um eine sehr heterogen zusammengesetzte Gruppe (2 x malignes Melanom, 2 x Morbus Hodgkin, 1 x Rectum-Ca., 1 x Lungen-Ca., 1 x Reticulosarkomatose), siehe Tabelle 1. Wie Abb.4 zeigt, betrug der M-LDH -Anteil dieser Tumoren vorwiegend zwischen 40 u. 60 %, lag also deutlich unter

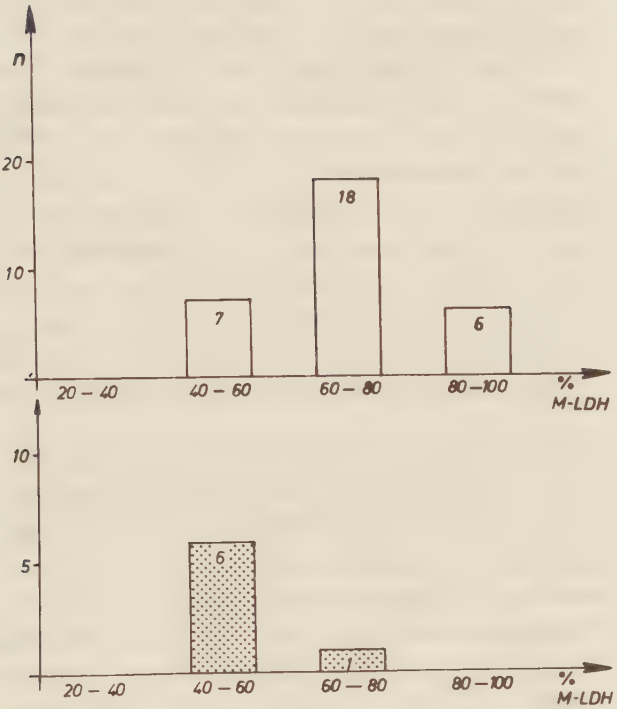


Abb. 4 : Anteil der M-LDH im Enzymmuster der Malignome.
oben: Patienten ohne Nachweis des S-LDH Typs C.
unten: Patienten mit Nachweis des S-LDH Typs C.

dem Mittel der übrigen Tumoren. Unklar bleibt, warum weitere 7 Tumoren des untersuchten Materials mit M-LDH-Anteil im selben Bereich dieses Enzymmuster im Serum nicht aufwiesen. Es sei in diesem Zusammenhang jedoch auf die Untersuchungen der folgenden Kapitel verwiesen, die zeigen, daß außer der Tumor LDH-Zusammensetzung zum Auftreten des Typs C im Serum weitere klinische Voraussetzungen erfüllt sein müssen.

Insgesamt ließ sich weder für Tumorklassen wie Sarkome und Carcinome noch für die Mehrzal der Tumoren gleichartigen histologischen Aufbaus ein für die jeweilige Gruppe charakteristisches bzw. übereinstimmendes LDH-Isoenzymverteilungsmuster nachweisen. Aus Tierversuchen sind ähnliche Ergebnisse bekannt (42).

5.) Bei 35 von 38 Patienten wurde sowohl die LDH-Isoenzymbestimmung des Tumorgewebes vorgenommen, als auch das Serumenzymmuster bestimmt. Folgende Verteilung ergab sich:

Atypische Verteilungsmuster	17
Normalverteilung	10 (28,6%)
Typ C	7 (20 %)
Typ B	1

In der Gruppe der Tumoren mit einem M-LDH-Anteil von 40 % - 60 % (insgesamt 13 Patienten) ergibt sich folgende Verteilung:

Typ C = 6; U = 3; N = 3; nicht bestimmt = 1

Wie Abb. 4 zeigt, scheint das Auftreten des Typ C durch einen M-LDH-Anteil im Tumorgewebe zwischen 40 u. 60 % besonders begünstigt zu sein. Siehe Abschnitt 4.).

6.) Drei Tumoren der Gruppe mit M-LDH zwischen 40 % und 60 % weisen Normalverteilung auf. Auffällig ist, daß es sich bei diesen drei Tumoren jeweils um Adeno-Carcinome handelt. Das einzige Typ C Verteilungsmuster im Serum außerhalb der Tumorgruppe mit M-LDH-Anteil zwischen 40 u. 60 % weist außerdem ein Patient mit Rectum-Adeno-Carcinom (M-LDH = 70,5 %) auf.

Bei 9 der 38 untersuchten Tumoren handelt es sich um Adeno-Carcinome. Diese haben folgende Serumenzymverteilung:

6 x N; 2 x U; 1 x C; 3 x nicht bestimmt

Bei sämtlichen Tumorträgern abzüglich Trägern von Adeno-Carcinomen, bei denen das Serumenzymmuster bestimmt wurde (n = 26) beträgt der Anteil der normalen LDH-Verteilung im Serum 15,4 %, bei den Trägern von Adeno-Carcinomen dagegen 66,7 %. Anscheinend kommt es bei den Adeno-Carcinomen im Vergleich zu den sonstigen Carcinomen zu einer geringeren Gewebs-LDH-Einschwemmung in das Serum. Dies könnte ein Hinweis dafür sein, daß die Tumor-Histologie zwar, wie oben nachgewiesen, keinen Einfluß auf die Zusammensetzung der Tumor-LDH hat, ihr jedoch ev. für den Übertritt der LDH aus dem Gewebe ins Serum eine Bedeutung beizumessen ist.

VIII. UNTERSCHIEDLICHE ELIMINATIONSRATEN VON EINZELNEN ISOENZYMFRAKTIONEN DES SERUMS

Organtypische Isoenzymverteilungsmuster entstehen im Serum durch den Einstrom charakteristisch verteilter Isoenzyme aus einem geschädigten Organ in den Intravasalraum. Insbesondere gilt dies für die Verteilungsmuster von Typ A und Typ B, denen Schädigungen eines Organs mit vorwiegend nur einer Enzymfraktion zugrunde liegen. Die meisten menschlichen Tumoren weisen offenbar eine Isoenzymverteilung mit Praevalenz des M-LDH-Anteils auf (26,62). Im vorliegenden Untersuchungsmaterial hatten 94,7 % der Tumorgewebe eine solche Verteilung. Ein direkt äquivalentes Muster im menschlichen Serum und im Tumorgewebe als Folge des Tumorbefalls ist nur selten nachweisbar (22, 48) Dagegen wird bei Tumorerkrankungen und Haemoblastosen häufig eine S-LDH-Isoenzymverteilung mit Aktivitätszunahme der LDH-Fraktionen II - IV beschrieben (13, 22, 48, 60, 66, 100, 106, 107), die im Tumorgewebe selbst nur selten nachweisbar ist (39, 76). Mit einer einfachen Überlagerung der physiologischerweise im Serum befindlichen LDH durch vom Tumor in das Blutserum übertretende LDH läßt sich der Typ C nicht befriedigend erklären.

BOYD (14) MAHEY (51) konnten im Tierversuch für die einzelnen Isoenzymfraktionen unterschiedlich rasche Eliminationsgeschwindigkeiten nachweisen. Ähnliche Untersuchungen beim Menschen sind bisher lediglich durch FRÖHLICH (23) bekannt geworden, der bei Leukämiekranken eine von Fraktion I - V ansteigende Eliminierungsgeschwindigkeit für die einzelnen LDH-Fraktionen feststellte. In der vorliegenden Untersuchung wird anhand klinischer Beobachtungen geprüft, in wiefern bei Tumorträgern die unterschiedliche Zusammensetzung von Malignom-LDH und Serum-LDH durch verschieden schnelle Elimination

einzelner Isoenzyme bedingt ist. Für den Verteilungstyp C hätte eine unterschiedliche Elimination besondere Bedeutung, da dieser, im Gegensatz zu den Typen A und B durch Aktivitätszunahme in mehreren Fraktionen gekennzeichnet ist.(Siehe Abb. 1 u. 2) Weiter war die Frage einer selektiven Abgabe von LDH-Isoenzymen aus der Tumorzelle zu prüfen.

IX. VERGLEICH VON TUMOR- und SERUM-LDH BEI DEN MALIGNOM-TRÄGERN DEREN SERUM DEN VERTEILUNGSTYP C AUFWIES

Tab. 2 zeigt in einer Übersicht die Fraktionsverteilung der Serum- und Tumor-LDH derjenigen Patienten, die im Serum den Typ C aufwiesen und bei denen das Isoenzymverteilungsmuster des Tumorgewebes bestimmt werden konnte. In sämtlichen Fällen ergab sich weder aus klinischen Untersuchungen noch aus der Autopsie ein Hinweis auf eine zusätzliche Organschädigung, welche neben dem Tumorgewebe als Ursprung der erhöhten S-LDH in Betracht käme.

Tabelle 2

LDH-Zusammensetzung in Serum und Tumor bei Malignom-Patienten mit S-LDH Typ C

Name	Diagnose		I	II	III	IV	V	Gesamt IE
					LDH			
Da.	M.Hodgkin	S:	24	50	20	5	1	434
		T:	5	22	33	30	10	
Eh.	Malignes Melanom	S:	35	43	10	10	2	332
		T:	16	25	29	18	12	
Ho.	Bonchial-Ca.	S:	23	44	25	6	2	468
		T:	3	18	33	29	17	
Kö.	Reticulo-Sa.	S:	29	52	15	3	1	600
		T:	5	22	27	26	20	
Pro.	Rectum-Ca.	S:	15	34	25	19,5	6.5	618
		T:	4	9	21	33	33	
Schn.	Malignes Melanom	S:	18	52	22	6	2	7680
		T:	8	24	34	25	9	

S = Serum-LDH-Verteilung ; T = Tumor-LDH-Verteilung

Für die Tumoren der 7 zum Vergleich herangezogenen Patienten war das einzige gemeinsame Charakteristikum die Zusammensetzung der Malignom-LDH, die sich mit hoher statistischer Signifikanz im Mittelwertsvergleich unabhängiger Stichproben mit Hilfe des t-Testes von der restlichen Tumorgruppe abhoben.(Signifikanzniveau $2\alpha < 0{,}005$)

Mittels des WILCOXON-Tests für Paardifferenzen wurde geprüft, ob bei den 7 Tumorpatienten, deren Tumorgewebe analysiert worden war und deren Serum den Verteilungstyp C aufwies, eine Identität zwischen Serum- und Tumor-LDH bestand.

Ergebnis: für sämtliche Fraktionen ergab sich auf folgendem Signifikanzniveau eine signifikante Differenz.

LDH I :	$2\alpha \geq 0{,}02$
LDH II :	$2\alpha \geq 0{,}02$
LDH III:	$2\alpha \geq 0{,}05$
LDH IV :	$2\alpha \geq 0{,}02$
LDH V :	$2\alpha \geq 0{,}10$

Die Serumenzymmuster der Tumorträger, deren Serum nicht Typ C aufwies, lassen sich in drei Gruppen zusammenfassen (siehe auch Tab. 1):

a) normaler Verteilungstyp
b) begleitende Organerkrankung
c) atypisches Serummuster (evtl. Überlagerung von multiplen Organschäden, evtl. Vorstufen eines noch nicht voll ausgeprägten Typ C. s.a. (22))

Bei Organschädigungen wird die Entstehung typischer S-LDH Isoenzymmuster auf den Einstrom organtypisch zusammengesetzter LDH in das Serum zurückgeführt. Diese zusätzlich einströmende LDH überlagert sich mit der normalerweise vorhandenen LDH. Durch Subtraktion des normalen S-LDH-Verteilungsmusters von dem pathologischen Serum-Enzymmuster ist der Schluß auf die Zusammensetzung der zusätzlich in das Serum einströmenden LDH möglich.

Mit Hilfe des FRIEDMANN-Tests der parameterfreien Varianzanalyse abhängiger Stichproben wurde geprüft, ob eine Übereinstimmung zwischen den einzelnen Isoenzymfraktionen der Tumorauftrennungen und den einzelnen Isoenzymfraktionen der zusätzlichen Serum-LDH bestand. Es fand sich keine Übereinstimmung, vielmehr zeigten sich signifikante Unterschiede ($p = 0{,}005$).

Wie Abb. 5a zeigt, ergab sich in den Fraktionen LDH I und LDH II ein Zuwachs an Aktivität und besonders in den Fraktionen LDH IV und LDH V ein Aktivitätsdefizit. Hypothetisch kann als Grund dieser Verschiebung eine unterschiedlich schnelle Elimination der Einzelfraktionen aus dem Serum angenommen werden. Aus Gründen der rechnerischen Zulässigkeit waren die Berechnungen für den Patienten Fr. nicht durchführbar, da bei seinem Tumorgewebe für die Fraktion I keine Aktivität nachweisbar war.

BOYD (14) sowie MAHEY et. al. (51) beobachteten im Tierversuch unterschiedlich schnelle Eliminationsraten für die einzelnen LDH-Fraktionen. BOYD (14) ermittelte für die endogene LDH des Schafes von LDH I zu LDH V abfallende Halbwertzeichen von 48,6 - 30,8 - 20,0 - 12,6 und 7,4 Stunden. Mit Hilfe eines Rechenmodells betrug die Eliminationsrate von LDH I / LDH V je nach Rechenansatz 1 : 7,5 oder 1 : 15.

FRÖHLICH (23) ermittelte bei Paraleukoblastose-Patienten ($n = 10$) folgendes Verhältnis der Eliminationsraten (bezogen auf LDH I = 1) :

1 : 2,73 : 7,67 : 15,77 : 34,62

In einem Rechenverfahren wurde die Relation der Eliminationsgeschwindigkeiten für die LDH-Proteine der einzelnen Fraktionen ermittelt, die hypothetisch vorausgesetzt werden müssen, um die Unterschiede in den Enzymverteilungsmustern der Seren und Tumoren der Patienten mit dem S-LDH Typ C erklären zu können.

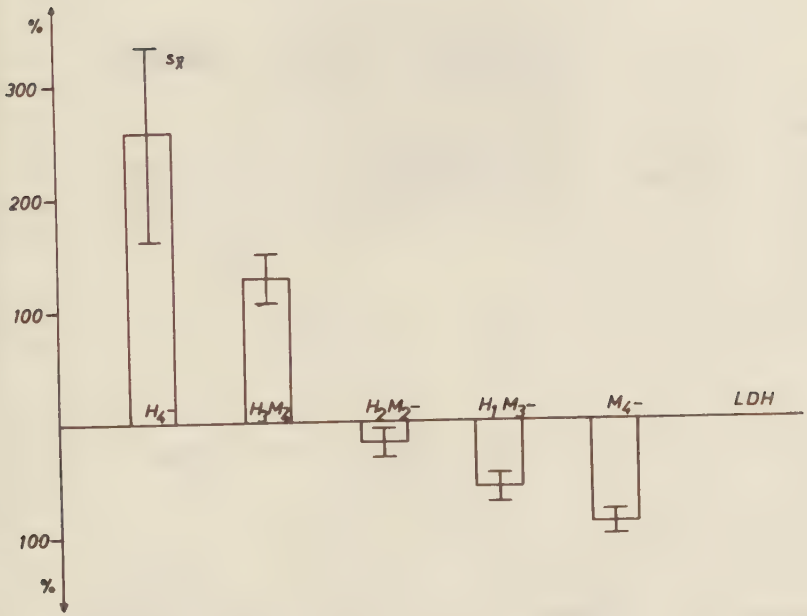


Abb. 5a : Vergleich des Musters der zusätzlich in das Serum von Malignom-Patienten eingeströmten LDH mit der des Tumorgewebes.
Dargestellt ist der dabei errechnete Überschuß bzw. das Defizit an Aktivität in den einzelnen S-LDH Fraktionen (s. Tab. 4)
n = 6

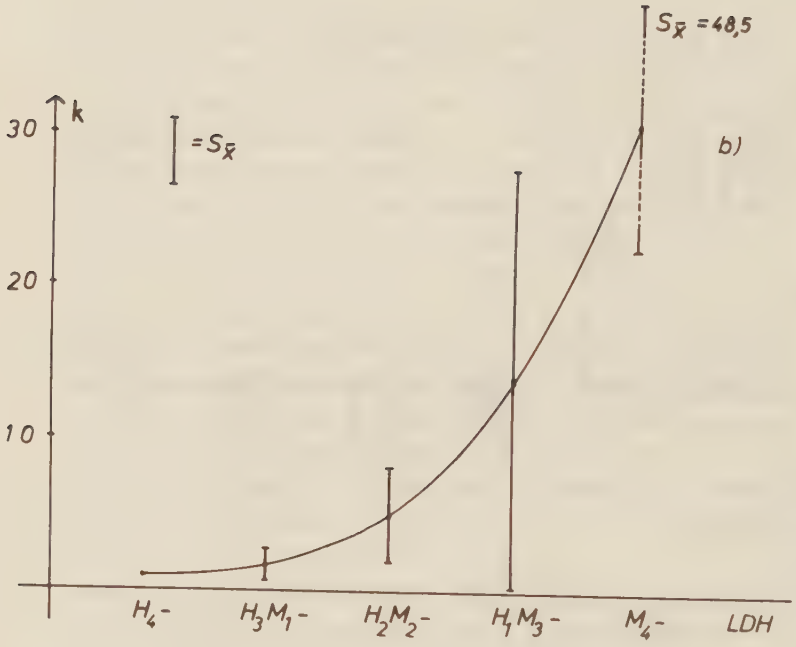
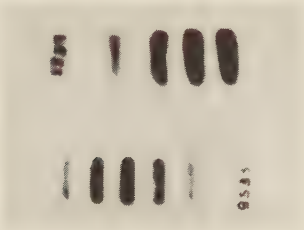


Abb. 5b : Relation der Eliminationskonstanten von LDH I / LDH V. Ermittelt aus der Differenz des Serum- und Malignom-LDH-Verteilungsmusters von 6 Patienten mit dem S-LDH Typ C.

ÜBERSICHT PATIENT PRO.



	I	II	III	IV	V
TUMOR	4	9	21	33	33
SERUM	15	34	25	19,5	6,5

Abb. 5c : Vergleich der Auftrennungen von Tumor-LDH und Serum-LDH am Beispiel des Patienten Pro.

oben : Gegenüberstellung der Original = auftrennungen.

unten : Zahlenmäßige Auswertung der oben dargestellten Auftrennungen.

Folgende Berechnungen wurden durchgeführt:

1.) Ermittlung der über dem physiologischen Serum-LDH-Spiegel liegenden Enzymaktivität in den einzelnen S-LDH Fraktionen (= zusätzliche S-LDH) bei den in Tab. 2 aufgeführten Patienten. (siehe Rechenbeispiel Tab. 3 u. 4)

2.) Vergleich der zusätzlichen S-LDH mit der Tumor-LDH des gleichen Patienten. Bei Annahme gleicher Einschwemmgeschwindigkeiten und gleicher Eliminationsraten für alle LDH-Fraktionen hätten beide Verteilungsmuster gleich sein müssen. Die zusätzliche S-LDH wies jedoch einen Überschuß an Aktivität in den Fraktionen I und II und ein Aktivitätsdefizit in den Fraktionen III – V auf. (Siehe Abb. 5a)

3.) Ermittlung des Prozentsatzes, um den die Fraktionen der zusätzlichen LDH im Serum zu hoch, bzw. zu niedrig im Vergleich zu der zu erwartenden Tumor-LDH lag. (siehe Tab. 5)
Der zu erwartende Tumor-LDH-Wert wurde gleich 100 % gesetzt. Bei allen Patienten ergab sich ein Abfall dieser Werte von LDH I nach LDH V. Wie eine Prüfung mit dem Konkordanzkoeffizienten nach KENDALL zeigte, kann diese Übereinstimmung nicht als zufällig angesehen werden. ($p = 0{,}01$) Nun wurden die Mittelwerte der prozentualen Abweichung für jede Fraktion ermittelt. (Siehe Tab. 5)

4.) Die errechneten Mittelwerte wurden als Ausdruck der verschieden schnellen Elimination der LDH-Fraktionen aus dem Serum angesehen und ihre Relation untereinander einer Eliminationskonstanten k jeder Fraktion gleichgesetzt. Für die Malignom-Patienten mit S-LDH-Typ C war

$$k_1 : k_2 : k_3 : k_4 : k_5 = 1 : 1{,}48 : 4{,}31 : 8{,}4 : 32{,}17$$

Tab. 3

RECHENBEISPIEL ZUR ERMITTLUNG

a) der zusätzlichen S-LDH (Gesamt-S-LDH abzüglich des physiologischen S-LDH-Spiegels) b) des Überschusses und Defizits an Aktivität in den einzelnen Fraktionen bei Vergleich der zusätzlichen S-LDH mit der des Tumors. Beispiel: Pro.

		I	II	III	IV	V	gesamt	
a) Patientenserum		15	34	25	19,5	6,5	100 %	A)
	IE	92,7	210,12	154,50	120,51	40,17	718 IE	
Norm. Serum	IE	66,19	76,10	15,79	5,21	4,7	168 IE	B)
Zusätzl. S-LDH	IE	26,51	134,02	138,71	115,30	35,47	450,01 IE	A)-B)
	%	5,89	29,78	30,82	25,62	7,88	100	C)
b) Tumor	%	4,0	9,0	21,0	33,0	33,0	100	D)
Überschuß bzw.		1,89	20,78	9,82	- 7,38	-25,12	[1])E	
Defizit		47,25	230,89	46,76	-22,36	-76,12	[2])F	
		147,25	330,89	146,76	77,64	23,88	[3])G	

[1])E = C - D; [2])F = E in % von D; [3])G Prozentangabe bezogen auf Sollwert = 100 %

Tab. 4 Isoenzymverteilung der zusätzlichen S-LDH (Gesamt-S-LDH abzüglich der physiologischen S-LDH) = S und der Tumor-LDH = T (Werte nach Tabelle 2.) der Patienten mit S-LDH-Typ C. Zahlenangaben in %.

	LDH									
	I		II		III		IV		V	
Pat.	S	T	S	T	S	T	S	T	S	T
Pro.	5,89	4	29,78	9	30,82	21	25,62	33	7,88	33
Da.	14,27	5	52,97	22	26,69	33	6,20	30	-0,14	10
Eh.	30,49	16	40,64	25	10,62	29	17,07	18	1,18	12
Schn.	17.52	8	52,15	24	22,28	34	6,07	25	1,98	9
Ho.	13,82	3	43,27	18	33,74	33	7,62	29	1,55	17
Kö.	24,96	3	54,61	22	17,16	27	2,96	28	0,30	20

Tab. 5 Überschuß und Defizit an Aktivität in den Fraktionen der zusätzlichen S-LDH (= nach Abzug der physiologischen S-LDH) bei Vergleich mit der Tumor-LDH-Zusammensetzung der Patienten mit S-LDH-Typ C (siehe Tab. 4). Zu erwartender Sollwert = 100 %.

	L D H				
Pat.	I	II	III	IV	V
Pro.	147,25	330,89	146,76	77,64	23,88
Da.	285,40	240,77	80,88	20,67	0
Ehn.	190,56	162,56	36,63	94,83	9,83
Schn.	217,29	217,29	65,53	24,28	22,00
Ho.	460,67	240,39	102,24	26,28	9,12
Kö.	832,00	248,23	63,63	10,57	1,50
$\bar{x}$	355,81	240,02	82,61	42,38	11,06
s_x	257,77	54,48	38,13	34,83	10,03
$s_{\bar{x}}$	105,24	22,24	15,57	14,22	4,10

Abb. 4 zeigt, daß vorwiegend bei der Tumoren, die einen LDH-Anteil zwischen 40 und 60 % aufweisen, im Blutserum der Typ C auftritt (46,3 %). In der Gruppe mit einem M-LDH-Anteil von 60 - 80 % trat der Typ C nur einmal auf (5,53 %) und bei den Tumoren mit einem M-LDH-Anteil von 80 - 100 % niemals. Demnach scheint als Folge der unterschiedlichen Eliminationskonstanten der LDH-Fraktionen der Typ C im Serum nur bei Tumoren einer bestimmten LDH-Zusammensetzung aufzutreten. Es ist anzunehmen, daß nur bei dieser Isoenzymverteilung eines Tumors im Serum der Typ C auftreten kann. Da der größte Teil (66 %) der untersuchten Tumoren einen M-LDH-Anteil von über 60 % aufwies, war von vornherein nur bei einem geringen Teil der Malignomträger mit dem Auftreten des Serumtyp C zu rechnen. Über ein typisches Serumenzymmuster für Malignomträger dieser Gruppe liegen bisher keine Untersuchungen vor.

X. ÜBERSICHT ÜBER DAS UNTERSUCHTE KRANKENGUT

Bei der Gegenüberstellung der Musterverteilung von 2394 Auftrennungen von Patienten mit benignen Erkrankungen und 1021 Auftrennungen von Malignomträgern zeigen sich erhebliche Unterschiede (siehe Abb. 6). Besonders ausgeprägt ist der Unterschied beider Gruppen bezüglich der Frequenz des Typs C. Eindeutige Muster (Typ A, B, C oder Normalverteilung) wiesen 42,3 % der Auftrennungen bei benignen Erkrankungen auf. Mit 45,2 % der Auftrennungen war dieser Prozentsatz bei den Tumorträgern ungefähr gleich groß. Die höheren Anteile der benignen Erkrankungen bei Typ A und Typ B entsprechen den Beobachtungen anderer Autoren, die eine Relationsverschiebung der Isoenzyme im Sinne von Typ A besonders bei haemolytischen Erkrankungen und floridem Myocardschaden beobachteten (8, 19, 34, 91, 98, 103) und ein dem Typ B entsprechendes Muster, besonders bei akuten Leberparenchymschäden (8, 19, 21, 92, 103, 107). Das Auftreten der Typen A und B im Kollektiv der Tumorkranken ist durch Begleitkrankheiten im Sinne von Myocardschädigungen, bzw. akuten Leberparenchymschäden begründet. (Siehe auch Kapitel: Untersuchungsmaterial und Auswertungsmethodik)

In der Gruppe "sonstige Muster" dominierte die Malignomgruppe deutlich. Eventuell sind in dieser Gruppe noch larvierte malignomtypische Muster enthalten (siehe auch Kapitel : Sensitivität des S-LDH Typs C). Besonders imponiert auch der starke Unterschied der Gruppen in der Rubrik "nicht auswertbar". Hier dürfte der höhere Prozentsatz an Auftrennungen mit einer Gesamt-S-LDH im Normbereich in der Gruppe "benigne" Erkrankungen und der dadurch bedingten ungünstigen Bedingungen für die quantitative Auswertung die Ursache sein. Die Differenz, die "normalen" Auftrennungen betreffend, findet ihre Erklärung in der Tat-

sache, daß unter den benignen Erkrankungen auch Fälle sind, bei den sich ein objektivierbarer Krankheitsbefund nicht erheben ließ, während in der Gruppe der Malignomträger jeweils das Grundleiden histologisch gesichert war.

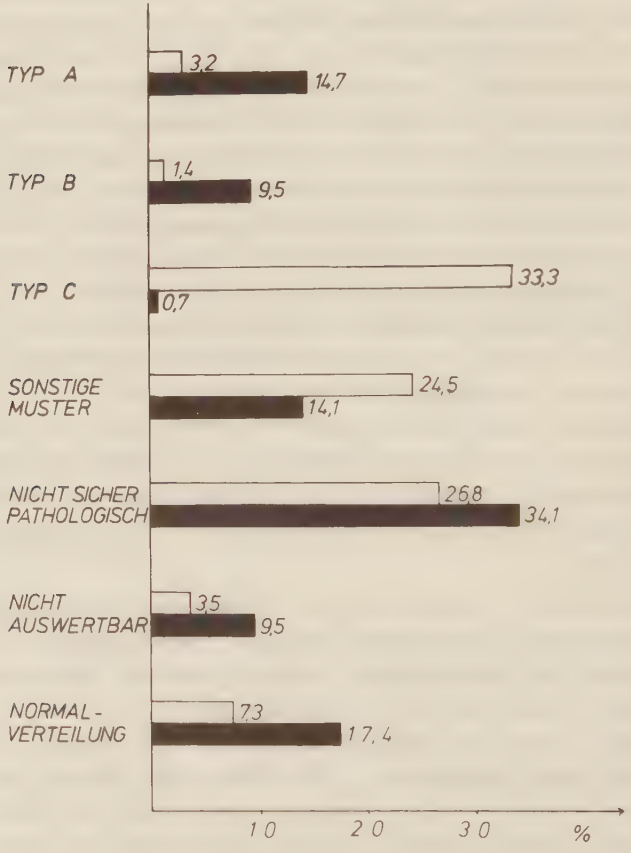


Abb. 6 : Vergleich der Häufigkeit der einzelnen Verteilungsmuster der S-LDH bei malignen ☐ (1021 Auftrennungen) und benignen ■ (2394 Auftrennungen) Erkrankungen.

XI. SERUM LDH-TYP C BEI DEN EINZELNEN MALIGNOM-ERKRANKUNGEN

Bei den einzelnen Malignom-Erkrankungen ist der Typ C unterschiedlich häufig. Insgesamt wiesen 143 der untersuchten 328 Malignomträger Typ C auf (43,6 %). Überdurchschnittlich häufig trat der Typ C bei Patienten mit Chronischer Myelose (83,8 %), Melano Sarkom (75,0 %), kleinzelligem Bronchialcarcinom (71,4 %), maligner Reticulose (62,5 %), akuter Leukose (61,5 %) und Osteomyelosklerose (100 %) auf.(Siehe Tab. 6)

Tab. 6

Patientenanteil mit S-LDH Typ C in den einzelnen Malignomgruppen

	Patienten	
Malignom	insgesamt	mit SLDH-Typ C
Chron.Myelose	37	31 (83.8 %)
Melano-Sarkom	8	6 (75 %)
kleinzell.Bronch.Ca.	7	5 (71.4 %)
maligne Retikulose	7	4 (62.5 %)
akute Leukose	36	22 (61 %)
Sarkom	33	16 (48.5 %)
Mb.Hodgkin	48	22 (45 %)
sonstige Malignome	14	5 (35.8 %)
sonstige Bronch.Ca.	15	5 (33.3 %)
sonstige Carcinome	55	13 (23.6 %)
chron.Lymphadenose	19	4 (21 %)
Prim.Tu.unbekannt	8	1 (12.5 %)
Mamma-Ca.	18	2 (11.1 %)
Plasmocytom	16	0 (0 %)
Osteomyelosklerose	7	7 (100 %)
	328	143 ($\bar{x}$=43.6 %)

Wie das Kapitel Isoenzyme von Tumorzytolysaten zeigt, war eine charakteristische LDH-Zusammensetzung für einen bestimmten Tumortyp oder eine Tumorgruppe nicht zu sichern, sodaß - eine ausreichende Repräsentanz des untersuchten Materials für eine derartige Aussage vorausgesetzt - eine Gesetzmäßigkeit in der Reihenfolge der Nachweishäufigkeit des S-LDH-Typs C bei den einzelnen Erkrankungen nicht zu erwarten war.
Da im Stadium III, gemessen an der Schwere des Krankheitsprozesses die einzelnen Erkrankungen am ehesten vergleichbar waren, wurde die Nachweishäufigkeit des S-LDH-Typs C in diesem Stadium ermittelt. Die hierbei gefundene S-LDH Typ C -Häufigkeit entspricht im Wesentlichen der für das gesamte Krankengut geltenden Nachweishäufigkeit. (Siehe Tab. 7)

Differenzieren wir bei den Bronchialcarcinomen nach histologischen Gesichtspunkten in kleinzellige Bronchialcarcinome und sonstige Bronchialcarcinome, so zeigt sich, daß 71,5% der Patienten mit kleinzelligem Bronchialcarcinom Typ C aufwiesen, im Gegensatz zu 33,3 % der sonstigen Bronchialcarcinome. Dieser enorme Unterschied in der Nachweishäufigkeit des S-LDH Typs C erscheint bemerkenswert, zumal sie der unterschiedlichen Lebenserwartung der Träger dieser Tumoren entspricht (109). Nach HINTON (37) findet sich bei Patienten mit kleinzelligem Bronchialcarcinom eine im Durchschnitt höhere Gesamt - S-LDH- Aktivität als bei Patienten mit histologisch andersartigen Lungentumoren. In diesem Zusammenhang muß auch auf die Sonderstellung der stark anaplastischen Carcinome beim Vergleich der Tumor-LDH-Verteilungsmuster hingewiesen werden. Eine evtl. Gleichstellung muß dahingestellt bleiben. Erwähnenswert erscheint außerdem die geringe Häufigkeit des Typ C bei den Carcinomen ganz allgemein (88 Patienten - 19 Typ C) und speziell bei den Mammacarcinomen (18 Patientinnen - 2 x praefinal Typ C).

Tab. 7 Nachweishäufigkeit des S-LDH Typs C bei einzelnen Malignomgruppen im Stadium III
Abhängigkeit vom Krankheitsstadium
Mindestzahl von Auftrennungen / Stadium / Krankheitsgruppe: 5

Diagnose	Stadium III Auftrennungen gesamt	S-LDH-Typ C n	%
Kleinzelliges Bronchial- Ca.	6	5	83,5
Maligne Melanome	8	6	75
Chron. Myelose	11	7	63,5
Sarkome	20	9	46
Akute Leukose	46	20	44,9
Morbus Hodgkin	39	12	30,8
Mamma-Ca.	7	2	28,6
sonst. Bronch. Ca.	9	2	22,2
chron. Lymphadenose	5	1	20
sonst. Ca.	26	4	15,4

XII. UNTERSUCHUNGEN ZUR SENSITIVITÄT DES S-LDH TYP C

a) Einfluß der Gesamtaktivität auf die Typenverteilung

Die Häufigkeit verschiedener Auftrennungsmuster bei erhöhter und nicht erhöhter S-LDH wurde mit Hilfe des χ^2 Testes untersucht. (Siehe auch Abb. 7)
Aus Gründen der statistischen Exaktheit konnte für diese Berechnungen lediglich die erste Auftrennung bei jedem Patienten berücksichtigt werden. Insgesamt wurden die Auftrennungen von 314 Patienten statistisch verwertet. Die Differenz zur Gesamtzahl der untersuchten Patienten ist darin begründet, daß bei 14 Patienten die S-LDH-Aktivität nicht bestimmt wurde, bzw. dem Krankenblatt nicht entnommen werden konnte. Bei der Erstauftrennung wiesen 137 Patienten eine erhöhte S-LDH-Gesamtaktivität auf, 177 Patienten eine S-LDH-Gesamtaktivität im Normbereich. Im χ^2 Test ergaben sich für die Nachweishäufigkeit der einzelnen S-LDH-Muster bei normaler und erhöhter S-LDH-Aktivität signifikante Unterschiede für Typ C und Typ "normales" Muster ($p = 0{,}005$), sowie Typ "nicht auswertbar" ($p = 0{,}01$).

Den größten Einfluß scheint die Gesamtaktivitätshöhe auf die Auswertbarkeit der Auftrennungen zu haben. Von 4,5 % in der Gruppe der Auftrennungen mit Aktivitätshöhen im Normbereich (insgesamt 486 Auftrennungen) sinkt der Prozentsatz der "nicht auswertbaren" Auftrennungen auf 1,28 % in der Gruppe der Auftrennungen mit oberhalb der Norm liegender Gesamtaktivität (insgesamt 470 Auftrennungen). Dies entspricht einer Senkung der nicht beurteilbaren Auftrennungen um 71 %. Auffällig ist der erhöhte Anteil der interpretierbaren Muster in der Gruppe mit erhöhter Gesamtaktivität. Hier sind insgesamt 60,8 % der Auftrennungen einem der 4 Grundmuster zuzuordnen, gegenüber 30,8 % bei S-LDH im Normbereich. Bedingt ist diese

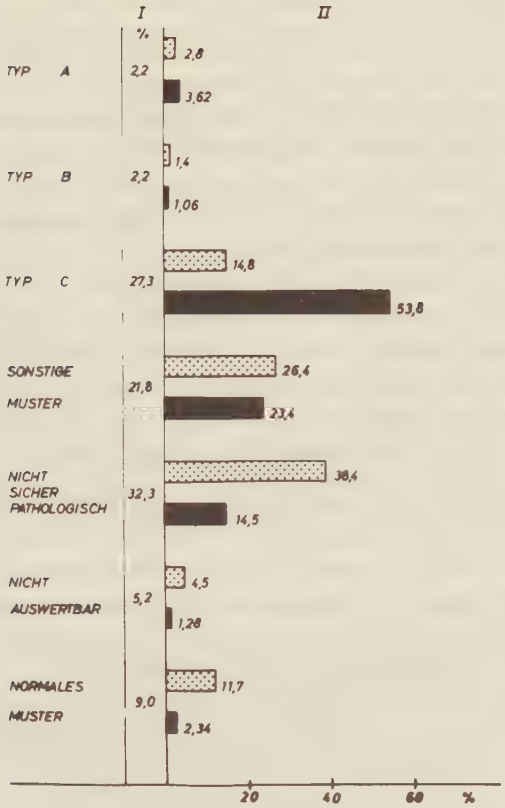


Abb. 7 : Verteilung der LDH-Enzymmuster im Serum von Malignom- und Haemoblastose-Kranken.
I Unter Berücksichtigung aller Enzymauftrennungen (PST-Auftrennungen)
II Verteilungsmuster aufgeschlüsselt nach ihrem Vorkommen bei normaler und bei erhöhter LDH-Aktivität im Blutserum.

Verdoppelung der Interpretierbarkeit der Auftrennungen ausschließlich durch das verstärkte Auftreten von Typ C in der Gruppe mit erhöhter S-LDH-Aktivität (siehe Abb.7).

Durchschnittlich wird der Typ C bei 33,3 % aller Auftrennungen gefunden. Bei Berücksichtigung lediglich der PST - Auftrennungen (siehe Kap. Untersuchungsmaterial und Auswertungsmethodik) ergibt sich für den Typ C ein Anteil von 27,4 % aller Auftrennungen. Aus klinischer Sicht erscheint die Betrachtung von PST - Auftrennungen am aussagekräftigsten. Mathematisch-statistisch ist die Betrachtung von jeweils der Erst-Auftrennung am zuverlässigsten. Hier ergibt sich für den Typ C ein Anteil von 33,9 %. Bei den Auftrennungen mit im Normbereich liegender Gesamt-LDH liegt das Vorkommen des Typ C bei 14,8 %. In der Gruppe mit erhöhter S-LDH jedoch beträgt die Häufigkeit des Typ C 53,8 %. Dies bedeutet eine Steigerung von 362 %.

Naturgemäß ist mit Anstieg der S-LDH Gesamtaktivität ein deutlicher Rückgang der "normalen" Muster festzustellen. (11,7 % gegen 2,34 %) Weiter bemerkenswert ist die Konstanz der S-LDH Verteilungstypen A und B in beiden Gruppen. Offensichtlich wird ihr Prozentsatz durch das Fortschreiten des Tumorprozesses - in diesem Sinne kann die Erhöhung der S-LDH-Gesamtaktivität nach den Untersuchungen interpretiert werden - nicht beeinflußt. Verursacht muß das Auftreten dieser Verteilungstypen offenbar durch nicht tumorbedingte Organschädigungen sein.

Die Häufigkeit der nicht sicher pathologischen Enzymmuster geht mit Anstieg der S-LDH-Aktivität von 38,4 % auf 14,5 % zurück. Insgesamt scheint die Zunahme des Auftrennungstyp C auf die Abnahme der "nicht sicher pathologischen" und der "normalen" Enzymmuster zurückzuführen zu sein. Möglicherweise enthält die Gruppe der "nicht sicher pathologischen" Muster bei normaler

LDH-Aktivität im Serum vorwiegend maskierte Typ C Auftrennungen, wobei ein zu geringer Eintritt von Tumor-LDH vorliegen dürfte, um dem physiologischen S-LDH-Muster in genügender Ausprägung sein Aussehen geben zu können.

Trotz der relativen Konstanz der "sonstigen" Muster dürfen wir diese starke und komplexe Gruppe bei der Interpretation nicht unberücksichtigt lassen. Die Umschichtung der prozentualen Anteile der drei hauptsächlich veränderten Muster bei unterschiedlicher S-LDH-Gesamtaktivität kann selbstverständlich auch unter Einbezug der zahlenmäßig konstanten Gruppe vor sich gehen. Zumindest schließen die Ergebnisse dies nicht aus. Bei verschiedenen Malignom-Patienten dieser Gruppe zeigten sich jedoch in auffallender Regelmäßigkeit besondere Isoenzymverteilungen, sodaß hier der Verdacht auf weitere tumorbedingte und evtl. tumorspezifische Verteilungsmuster gegeben ist. Im Rahmen dieser Untersuchung konnte diese Vermutung jedoch nicht überprüft werden.

b) Einfluß des Krankheitsstadiums auf die Gesamt-LDH:

Bezüglich der Definition der einzelnen Krankheitsstadien wird auf das Kapitel Untersuchungsmaterial und Auswertungsmethodik verwiesen. Im folgen den ist lediglich die Rede von Stadium I - III. Bereits im vorhergehenden Kapitel wurde die Bedeutung der Gesamtaktivität für die Methode und das Auftreten und Erkennen besonderer Muster aufgezeigt. Insgesamt wurde im Zusammenhang mit 946 Isoenzymanalysen bei Tumorpatienten gleichzeitig die S-LDH-Aktivität bestimmt. Die Verteilungsverhältnisse für die einzelnen Stadien zeigt Abb. 8

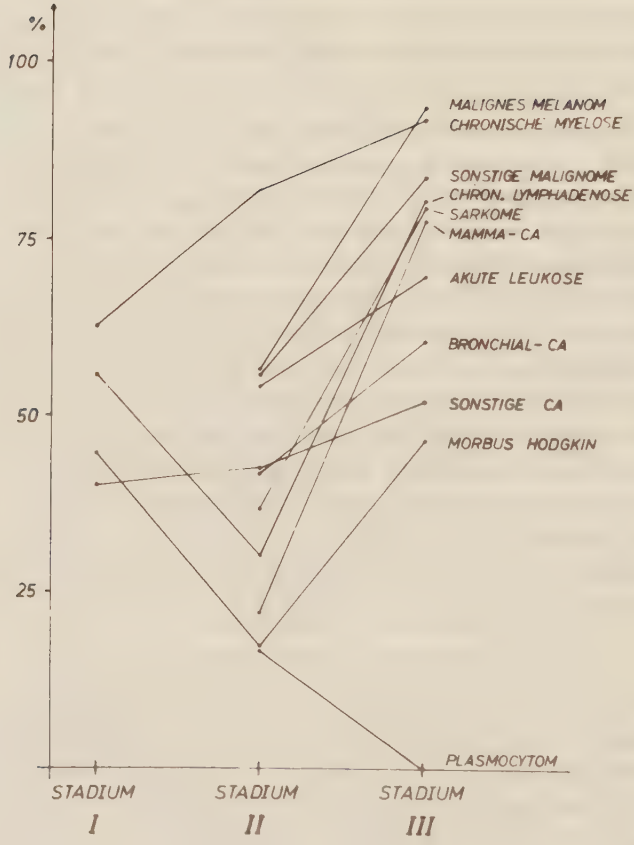


Abb. 8 : Abhängigkeit der S-LDH Aktivitätshöhe vom Fortschreiten der neoplastischen Erkrankung. Dargestellt ist der prozentuale Anteil der Auftrennungen mit S-LDH Aktivität > 240 IE an den gesamten Auftrennungen einer Krankheitsgruppe pro Stadium. (Berücksichtigt wurden nur PST-Auftrennungen und Krankheitsgruppen mit mindestens 4 Analysen pro Stadium).

Da die einzelnen Stadien von I - III vor allem durch das Fortschreiten des neoplastischen Prozesses charakterisiert sind, wird deutlich, daß die Gesamtaktivitätszunahme vom Fortschritt der Krankheit abhängig ist.

c) Einfluß des Krankheitsstadiums auf die Häufigkeit der verschiedenen Isoenzymverteilungsmuster:

Wegen der relativ geringen Fallzahl sei im Stadium I auf einen detaillierten Vergleich verzichtet. Beim Vergleich der Stadien II und III zeigt sich als hervorstechendste Beobachtung der starke Anstieg des Musters Typ C von 22,6 % in Stadium II auf 37 % in Stadium III. Weiter ist der starke Abfall des Musters "nicht sicher pathologisch" (35,16 % Stadium II - 26,6 % Stadium III) auffällig. Ähnlich verhält sich die Gruppe "nicht auswertbar". Der Zuwachs an Typ C Auftrennungen erfolgt auch unter diesem Aspekt hauptsächlich infolge eines Rückgangs der Muster "nicht auswertbar" und "nicht sicher pathologisch". Es ist zu vermuten, daß diese Rubriken in frühen Stadien der Tumorerkrankung Auftrennungen enthalten, die Vorstadien des Typ C darstellen. (Siehe auch Abb. 9)

Betrachten wir die Typ C - PST-Auftrennungshäufigkeit unter Berücksichtigung der Einzelkrankheiten so ergibt sich für Stadium II eine relativ wenig gestreute Häufigkeitsverteilung (siehe Tab. 8). Bei Osteomyelosklerose, chronischer Myelose und malignem Melanom kann der Typ C am häufigsten nachgewiesen werden.

Wesentlich größer ist die Streuung im Stadium III. Hier ist der Typ C bei den kleinzelligen Bronchialcarcinomen - bei Stadium II nicht berücksichtigt, da weniger als 4 PST-Auftrennungen - sowie bei den malignen Melanomen und chronischen Myelosen am häufigsten. Wie oben schon erwähnt, unterscheiden sich die kleinzelligen

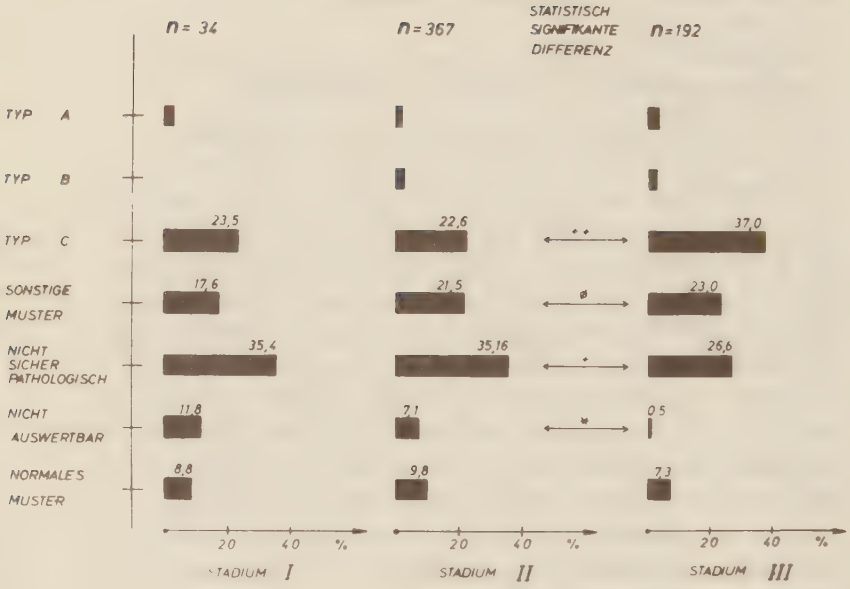


Abb. 9 : Verteilung der S-LDH-Muster in der verschiedenen Krankheitsstadien von Malignom- und Haemoblastosekranken.
(Berücksichtigt wurde pro Patient und Stadium jeder Verteilungstyp nur einmal).
Signifikanzniveau: ++ = $2\alpha \leq 0{,}0005$
+ = $2\alpha \leq 0{,}01$
* = wegen zu geringer Fallzahl hypergeometrische Wahrscheinlichkeitsberechnung notwendig.
Bei der statistischen Prüfung wurden jewils nur die ersten Auftrennungen von Patienten berücksichtigt, deren S-LDH im Stadium II (n = 199) bzw. III (n = 103) erstmals analysiert wurde.

STADIUM II

Diagnose	Auftrennungen gesamt	% S-LDH Typ C
Osteomyelosklerose	12	41,6
Chronische Myelose	65	38,5
Maligne Melanome	6	33,3
Sarkome	31	29,0
Reticulosen	7	28,6
Bronchialcarcinom	11	27,2
Sonstige Malignome	12	25,0
Sonstige Carcinome	43	23,3
Akute Leukose	34	20,6
Morbus Hodgkin	68	17,7
Chronische Lymphadenose	35	11,4

STADIUM III

Kleinzelliges Bronchial Ca.	6	83,5
Maligne Melanome	8	75,0
Chronische Myelose	11	63,5
Sarkome	20	46,0
Akute Leukose	46	45,0
Morbus Hodgkin	39	30,8
Mamma Ca	7	28,6
Sonstige Bronchial Ca.	9	22,2
Chronische Lymphadenose	5	20,0
Sonstige Carcinome	26	15,4

Tab. 8 : Häufigkeit des S-LDH Typs C und Abhängigkeit seines Auftretens vom Krankheitsstadium bei den einzelnen Malignomerkrankungen. (jeweils mindestens 4 Auftr. / Stad. / Diagn.)

Bronchialcarcinome und die histologisch andersartigen Bronchialcarcinome bezüglich der Häufigkeit der Aktivitätserhöhung der Gesamt-S-LDH sowie des Auftretens von Typ C. In diesem Zusammenhang sei nochmals auf die unterschiedliche Lebenserwartung hingewiesen.

Insgesamt ergibt sich bei der Analyse der einzelnen Isoenzymmuster eine ähnliche Abhängigkeit wie bei der Gesamtaktivität. Dies rührt wohl daher, daß zumindest im Stadium II und III die Höhe der LDH-Gesamtaktivität weitgehend vom Fortschritt des neoplastischen Prozesses abhängt und somit die S-LDH-Einschwemmung aus dem Tumor in das Serum ansteigt.

Im Kapitel Isoenzyme von Tumorgewebscytolysaten wurde gezeigt, daß die Häufung von S-LDH-Typ C Mustern bei Patienten mit besonders malignen Tumoren nicht durch eine besondere Zusammensetzung der LDH-Isoenzymverteilung im Tumorgewebe bedingt ist, sodaß angenommen werden muß, daß andere Faktoren, wie z.B. Tumorvaskularisation oder Enzymübertritt in den Extrazellulärraum bei besonders malignen Tumoren das Auftreten des Serumverteilungsmusters vom Typ C begünstigen. Das Auftreten des S-LDH Typ C in ähnlicher Häufigkeit bei histologisch sehr unterschiedlichen Tumoren weist darauf hin, daß der histologische Tumortyp zumindest nicht der allein entscheidende Faktor für das Auftreten des Typs C im Serum zu sein scheint.

XIII. ZUSAMMENSETZUNG DES ZAHLENMATERIALS UNTER BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG DES TYP C

Nach Abschluß der Untersuchungen stellte sich die Frage, ob unbeabsichtigt Seren, mit bestimmten Verteilungstypen (insbesondere des Typ C) überrepräsentativ häufig aufgetrennt wurden und dadurch eine Verschiebung der durchschnittlichen Häufigkeitsangaben hervorgerufen wurde.

Zusammenfassen läßt sich folgendes feststellen:
die Serum-LDH-Analysen wurden unselektiert nach Klinikanforderung vorgenommen. Pro Patient wurden durchschnittlich 3,11 Auftrennungen durchgeführt. Diese Gesamtgruppe läßt sich in drei Untergruppen unterteilen:

Gruppe 1: Patienten, in deren Serum sich der Typ C niemals nachweisen ließ. (Ø 2,53 Auftrennungen / Patient)

Gruppe 2: Patienten, in deren Serum sich nur der TypC nachweisen ließ.(Ø 2,13 Auftrennungen /Pat.)

Gruppe 3: Patienten, in deren Serum sich sowohl der Typ C als auch andere Auftrennungen nachweisen ließen.(Ø 5,94 Auftrennungen / Pat.)

Bei den typenreinen Gruppen I und II ergibt sich eine leichte Unterrepräsentation für den Serum Typ C. Mit 5,94 Auftrennungen pro Patient liegt die Gruppe III deutlich über dem Durchschnitt, wobei 2,65 Auftrennungen auf Typ C entfallen, gegenüber 3,29 Auftrennungen mit sonstigen Mustern. Die erhöhte Auftrennungshäufigkeit dieser Gruppe resultiert aus der schwierigeren Diagnosestellung und aus der interessanten Verlaufsbetrachtung.

Die Zahlenverhältnisse von Gruppe I und II lassen erkennen, daß in der Gesamtübersicht die Typ C Auftrennungen eher etwas unterrepräsentiert in Erscheinung treten.

Eine Verfälschung der Ergebnisse in der Form, daß die Seren von Patienten mit Typ C Nachweis besonders häufig aufgetrennt wurden, liegt daher nicht vor. Bezüglich der sich aus unterschiedlichen Häufigkeiten für die Statistik ergebenden Notwendigkeiten sei auf den Abschnitt "Allgemeine Bemerkungen zur Statistik" verwiesen. (Siehe auch Abb. 10)

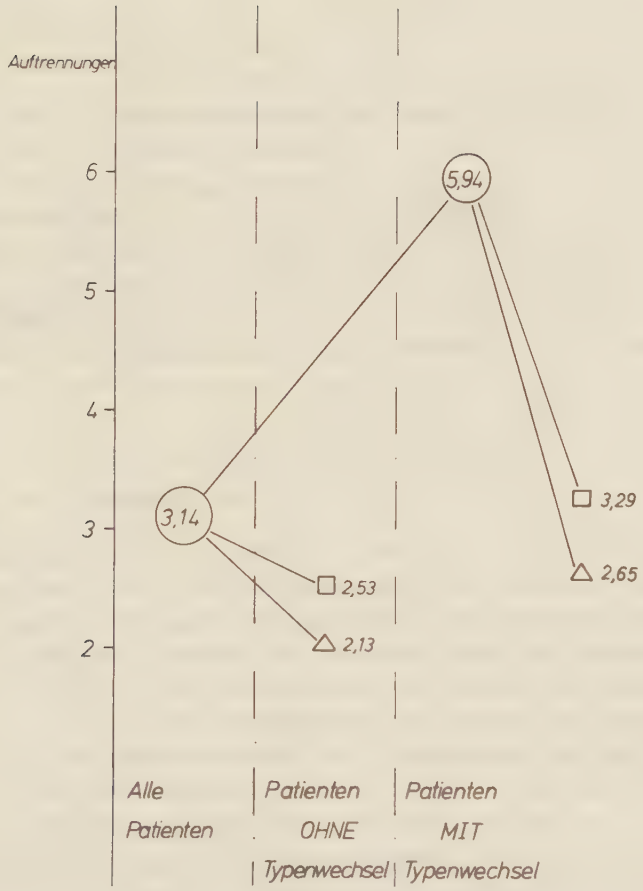


Abb. 10 : Spalte I : Durchschnittliche Auftrennungshäufigkeit pro Patient, bezogen auf alle Tumorpatienten.
Spalte II : Patienten ohne Typenwechsel. Durchschnittliche Auftrennhäufigkeit bei Pat. deren Serum nur Typ C bzw. nicht Typ C aufwies.
Spalte III : Patienten mit Typenwechsel. Gesamtauftrennungshäufigkeit bei diesen Pat. unterteilt in Anteil der Typ C und nicht Typ C Auftrennungen.

Typ C = △ ; nicht Typ C = □

XIV. VERLAUFSBETRACHTUNG

Für die einzelnen Krankheitsgruppen wurden Untersuchungen zum LDH-Typenwechsel im Serum angestellt. Im Vordergrund des Interesses stand der Wechsel zwischen dem Auftreten von Typ C und anderen LDH-Mustern. Jeder Wechsel von Typ C und Nicht-Typ C Auftrennung bei einem Patienten wurde als Phasenwechsel bezeichnet. Da nur bei 40,7 % der Auftrennungen des Materials eine Zuordnung zu einem bekannten Muster (einschließlich Typ C) möglich war, lag die Phasenwechselzahl naturgemäß recht hoch. Für die 143 Patienten, deren Serum jemals Typ C aufwies, ergab sich folgendes:

54,5 % wiesen nur Typ C auf

45,5 % wiesen Typ C und Nicht-Typ C im Wechsel auf.

Nach Aufgliederung der Gesamtgruppe in verschiedene Tumorgruppen zeigte sich, daß bei einzelnen Krankheiten, wie chronische Myelose, akute Leukose, chronische Lymphadenose und Morbus Hodgkin die Mehrzahl der Patienten einen mehrphasigen Verlauf aufwies.

Eine Abhängigkeit des S-LDH-Typ C Auftretens von klinischen Bedingungen ist denkbar. Mit Hilfe des WILCOXON Tests sowie des MANN-WHITNEY Tests wurde der Zusammenhang zwischen Leukozytenzahl und Auftreten von Typ C sowohl bei akuter Leukose als auch bei chronischer Myelose untersucht. Für den WILCOXON Test standen aus dem Material von 30 Patienten mit akuter Leukose (bzw. 29 Patienten mit chronischer Myelose), bei denen zusammen mit der LDH-Isoenzymbestimmung des Serums auch eine Zählung der Leukozyten vorgenommen worden war, die Werte von 10 (bzw. 15) Patienten zur Verfügung, deren Isoenzymauftrennungen im Wechsel Typ C und Nicht-Typ C aufgewiesen hatten. Jeweils die erste Typ C und Nicht-Typ C Auftrennung gingen in die Berechnung ein.

Ergebnis: Sowohl für die akute Leukose als auch für die chronische Myelose ergab sich mit einer Signifikanz von $p = 0,01$ eine Korrelation zwischen dem Auftreten des Typ C und einer erhöhten Leukozytenzahl.

Für den MANN-WHITNEY-Test wurden jeweils nur die Erstauftrennungen der 30 Patienten mit akuter Leukose, bzw. 29 Patienten mit chronischer Myelose berücksichtigt.

Ergebnis: Für die Kombination Typ C - erhöhte Leukozytenzahl ergab sich "Signifikanz"

bei der akuten Leukozytose auf einem Signifikanzniveau von $0,10 \leq 2\alpha \leq 0,20$

bei der chronischen Myelose auf einem Signifikanzniveau von $0,05 \leq 2\alpha \leq 0,10$

(Siehe auch Tab. 9 - 12).

Sowohl durch den WILCOXON-Test als auch den MANN-WHITNEY-Test ließ sich ein Zusammenhang von erhöhter Leukozytenzahl und dem Auftreten des Verteilungsmusters vom Typ C im Serum aufzeigen. Somit ergibt sich, zumindest bei akuten Leukosen eine Erklärungsmöglichkeit für den relativ häufigen "Phasenwechsel" (alternierendes Auftreten und Verschwinden des S-LDH-Typs C) des S-LDH Isoenzymmusters (siehe Abb. 11).

Inwiefern eine direkte Abhängigkeit von Typ C einerseits und Krankheitsverlauf und Therapie andererseits besteht, kann nur eine weitere eingehende Untersuchung klären.

Zusammenfassen kann festgestellt werden, daß ....

1.) ... ein Zusammenhang zwischen dem LDH-Typ C Nachweis und der Zahl der neoplastischen Zellen besteht. (Siehe auch Abhängigkeit des Typ C vom Stadium der Erkrankung)

2.) ... bei Verdacht auf das Vorliegen eines neoplastischen Prozesses bei negativem Serumenzymbefund wiederholte Kontrollen notwendig sind.

3.) ... insbesondere bei Krankheiten, wie akuter Leukose, chron. Myelose und Morbus Hodgkin ein wiederholtes Verschwinden des Typ C aus dem Serum beobachtet wird. Worauf dies zurückzuführen ist, muß offen bleiben. In einer Reihe von Fällen müssen wir dies am ehesten auf die eingeschlagene Therapie zurückführen. Weitere Untersuchungen hätten insbesondere zu klären, ob durch LDH-Analysen eine Effektivitätskontrolle der Therapie möglich ist.

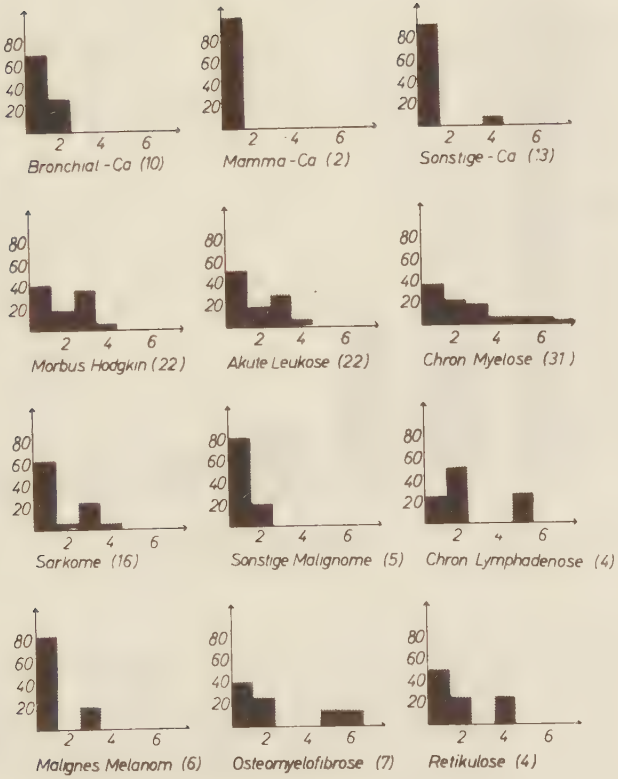


Abb. 11 : Häufigkeit des "Phasenwechsels" (wechselndes Auftreten und Verschwinden des Typ C während des Krankheitsverlaufs bei einzelnen Patienten) dargestellt für die einzelnen Krankheitsgruppen (jede Gruppe = 100 %)

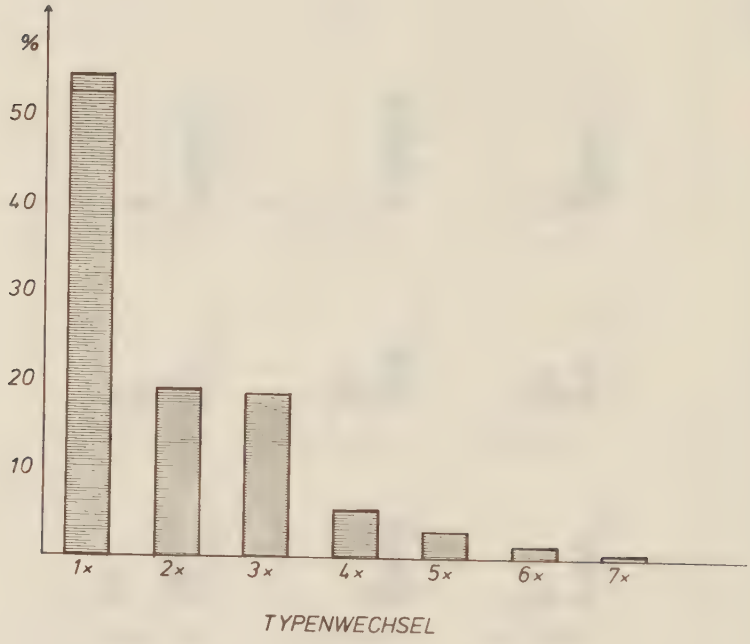


Abb. 12 : Prozentualer Anteil der Patienten die jemals Typ C aufwies en (149 = 100 %) gruppiert nach Häufigkeit des Typenwechsels (wechselnder Nachweis und nicht Nachweis des Typ C im Blutserum.)

AKUTE LEUKOSE (Wilcoxon Test)

Leukozytenzahlen (10 Patienten)

1. Auftrennung Typ C	1. Auftrennung Nicht-Typ C
105 600	1 200
4 900	3 050
73 000	51 000
35 000	6 250
17 700	4 400
300	650
6 520	4 930
25 000	30 000
96 000	3 500
1 700	3 200

Tabelle 9

AKUTE LEUKOSE (Mann-Whitney-Test)

Leukozytenzahlen (30 Patienten)

1. Auftrennung	
Typ C	Nicht-Typ C
4 000	650
4 500	1 600
4 930	2 150
5 360	2 800
8 400	3 050
15 000	3 200
17 750	4 500
36 500	4 650
96 500	6 250
105 600	6 700
124 000	14 700
160 000	24 350
	30 000
	40 000
	51 000
	71 500
	100 000
	120 000

Tabelle 10

CHRONISCHE MYELOSE (Wilcoxon Test)

Leukozytenzahlen (15 Patienten)

1. Auftrennung Typ C	1. Auftrennung Nicht-Typ C
73 000	50 000
115 000	24 625
10 000	2 800
38 600	108 000
271 000	118 000
462 000	500 000
68 000	6 000
48 000	55 000
51 000	31 000
190 000	20 000
34 000	15 000
89 000	23 800
239 000	94 000
470 000	43 000
336 000	313 000

Tabelle 11

CHRONISCHE MYELOSE (Mann-Whitney-Test)

Leukozytenzahlen (29 Patienten)

1. Auftrennung	
Typ C	Nicht-Typ C
7 400	3 050
10 000	3 650
15 300	30 000
18 800	31 000
23 000	50 000
31 500	76 000
34 000	118 000
38 600	
48 000	
56 000	
68 000	
89 000	
115 000	
118 000	
155 000	
190 000	
239 000	
361 000	
377 000	
336 000	
462 000	
470 000	

Tabelle 12

XV. KLINISCH-DIAGNOSTISCHE BEDEUTUNG DES SERUM-LDH-TYPS C

Von 328 Patienten mit Malignomen und Haemoblastosen fand sich bei 143 der S-LDH Typ C, während er bei 185 Patienten nicht nachgewiesen werden konnte. Zur Klärung der klinisch-diagnostischen Bedeutung des Typ C Nachweises für den Einzelfall des Krankengutes wurden die Enzymanalysen danach zusammengestellt, ob die Malignitätsdiagnose beim erstmaligen Typ C Nachweis bereits durch Gewebsuntersuchung gesichert war, oder nur vermutet werden konnte. Kriterium für einen Malignom-Verdacht, war die Verdachtsäußerung klinischerseits vor der S-LDH Analyse bei entsprechendem klinischen Befund und entsprechender Anamnese. In einer weiteren Gruppe wurden die Patienten zusammengefaßt, bei denen zum Zeitpunkt des Erstnachweises von Typ C ein Tumorleiden weder bekannt war, noch vermutet wurde, bei denen jedoch spätere anderweitige Untersuchungen den sicheren Anhalt für einen malignen Prozeß erbrachten. (Siehe Tab. 13)

Bei 112 Patienten, dies entspricht 78,3 % der Patienten, die Typ C aufwiesen, war beim Erstnachweis des Typ C die Tumordiagnose bereits bekannt. In diesen Fällen war der Enzymbefund keine Bereicherung der Diagnostik. Bedeutungsvoller erscheint der Nachweis des Enzymmusters bei 25 Patienten (17,5 %), deren klinische Befunde bis dahin lediglich den Verdacht eines malignen Prozesses hatten aufkommen lassen. In diesen Fällen ist ein weiterer Malignomhinweis jedenfalls von unglich größerer Wichtigkeit. Bei 6 Patienten (4,2 %) war der Typ C Nachweis der erste Hinweis auf ein später klinisch bestätigtes Malignomleiden.

Insgesamt wird deutlich, daß bei 31 Patienten (= 21,7 % aller Tumorpatienten, die Typ C aufwiesen und 9,5 % aller insgesamt untersuchten Tumorpatienten) durch Nachweis des Isoenzymverteilungsmusters Typ C eine noch fragliche Tumordiagnose weiter untermauert wurde, bzw. der erste Hinweis auf eine maligne Erkrankung erfolgte.

Die angegebenen Relationswerte dürfen nicht als definitive Aussage über den Informationswert betrachtet werden, da es sich weder um eine systematische Untersuchung aller in der Klinik bekannt gewordener Tumorpatienten, noch um die Erkrankungsfälle bei denen ein derartiger Prozeß vermutet, bzw. nicht vermutet wurde, handelte.

Weiter wäre zur umfassenden Beurteilung der Aussagekraft der Methode eine Untersuchung darüber notwendig, wie häufig der klinisch geäußerte Verdacht auf ein Malignom-Leiden durch die Untersuchung zurecht nicht bestätigt wurde. Retrospektiv ließen sich diese Untersuchungen jedoch nicht mit der notwendigen Eindeutigkeit durchführen.

a)

S-LDH Typ C im Stadium	Malignom unbekannt 100 %	vermutet 100 %	bekannt 100 %
I	-	12 %	4,5 %
II	67 %	48 %	52,5 %
III	33 %	40 %	43,0 %
Patienten insgesamt	6	25	112

b)

Diagnose	Patientenzahl unbekannt	vermutet	bekannt
Bronchialcarzinom	1	3	6
Morbus Hodgkin	1	3	18
Osteomyeloskl.	1	3	3
Maligne Retikulose	1	2	1
Akute Leukose	1	-	21
Sonstige Malignome	1	-	4
Sonstige Carzinome	-	9	4
Mamma Carzinome	-	-	2
Sarkome	-	3	13
Maligne Melanome	-	-	6
Chronische Myelose	-	2	29
Chronische Lymphad.	-	-	4
Primärtumor unbekannt	-	-	1
Patientenzahl insgesamt	6	25	112
	(4,2 %)	(17,5 %)	(78,3 %)

Tab. 13 : Sicherheit der Diagnose bei Erstnachweis von S-LDH Typ C
a) Gliederung nach Krankheitsstadium
b) Gliederung nach Erkrankungsart

XVI. UNTERSUCHUNGEN ZUR SPEZIFITÄT DES S-LDH TYPS C

In Tabelle 14 sind die Patienten zusammengestellt, bei denen der Typ C nachgewiesen werden konnte, ohne daß eine Malignom-Erkrankung hätte gesichert werden können. Völlig ausgeschlossen konnte ein Malignom-Leiden aufgrund der Obduktionsbefunde jedoch nur bei den Patienten Ke.R. (Gruppe A) und Vo.Fr. (Gruppe C) werden.
Bei dem Patienten Ke.R. konnte bei der Erstuntersuchung ein normales Enzymmuster nachgewiesen werden. Bei der zweiten Untersuchung wurde der Typ C gefunden. Dieser Befund konnte nicht durch eine weitere Untersuchung gesichert werden, da der Patient an einer akuten Pankreas-Nekrose verstarb. Eine Ursache für das Auftreten des S-LDH Typ C ist nicht bekannt. Bei dem unterschiedlichen Ergebnis der beiden vorgenommenen Untersuchungen kann ein Laborfehler nicht sicher ausgeschlossen werden. Zu berücksichtigen ist, daß das Pankreas ein relativ LDH-reiches Organ ist (7) und diese LDH einen M-LDH Anteil aufweist (61, 62, 101, 107) der nach den vorliegenden Untersuchungen das Auftreten des Typ C im Serum begünstigt. Es erscheint möglich, daß bei der Nekrose eines Organs entsprechender LDH-Zusammensetzung im Serum der Typ C auftritt, ohne daß ein Tumorleiden vorliegt.

Sehr unwahrscheinlich war eine Malignom-Erkrankung bei allen Patienten der Gruppe B. 3 Patienten dieser Gruppe waren an einer Mononucleosis infectiosa erkrankt. Obwohl in zwei Fällen nur eine Einzeluntersuchung vorgenommen wurde, gewinnen die Befunde dadurch Bedeutung, daß im dritten Fall eine Kontrolluntersuchung den Typ C beschädigen konnte. ZONDAG (106, 107) beobachtete bei Mononucleosis infectiosa ebenfalls eine Aktivitätszunahme in den LDH-Fraktionen II-IV.

Tabelle 14

S-LDH - Analysen bei Patienten ohne Tumorbefall (A, C) bzw. ohne Hinweis auf eine neoplastische Erkrankung (B).

Pat.	Diagnose	SLDH-Analysen insg.	Typ C
A)	Sicher kein Malignombefall		
Ke.R.	Akute Pankreasnekrose	2	1
B)	Ohne Hinweis auf eine neoplastische Erkrankung		
Me.	Mononukleosis infektiosa pos.:23.u.26. negat.:29.,32., 42. Krkhts.tag.	5	2
Schm.Fr.	infekt.Mononukleosis (9. Krkhtstag)	1	1
Blä.D.	infekt.Mononukleosis (10.Krkhtstag)	1	1
Ha.H.	rezidivierende Fieberschübe bei Verdacht auf Bronchiektasen	4	1
Wei.R.	Dermatomyositis	4	2
Kn.E.	Hepatosplenomegalie Histol.: Retikulum-Zellhyperpl.	5	3
Ho.A.	Schwangerschaftshepatose. Zwillingstotgeburt	3	1
Rö. H.	Lungentuberkulose	1	1
C)	Thorotrast-Schädigung		
Vo.F.	Ablagerung und Schädigung durch Thorotrast in Leber, Milz, Lymphkn. und Beckenweichteilen Obduktion: keine maligne Entartung	4	4

SLDH-Analysen bei Patienten ohne Tumorbefall (A, C) bzw. ohne Hinweis auf eine neoplastische Erkrankung (B)

Das gesamte Untersuchungsmaterial umfaßt 6 Fälle von Mononucleosis infectiosa. Bei den 3 übrigen Fällen konnte keine Besonderheit im LDH-Verteilungsmuster beobachtet werden, jedoch lag hier der Termin der Untersuchung in einer späteren Phase des Krankheitsverlaufes als in den o.a. Fällen. Diese wiesen zum Untersuchungszeitpunkt zwischen 4902 - 6138 lymphomonocytäre Zellen an der Peripherie auf. In einem Fall normalisierte sich das S-LDH-Isoenzymmuster nach Abfall dieser Zellen im Blutbild. Untersuchungen über die Zusammensetzung des Isoenzymmusters dieser Zellen liegen nicht vor. Eine Aussage, inwiefern sie daher als Quelle der Enzymveränderung in Betracht kommen, kann somit nicht gemacht werden.

Die Mononucleosis infectiosa wird durch Viren mit einem ausgeprägten Tropismus gegenüber dem RES ausgelöst. Das RES reguliert die Enzymelimination, weswegen ihm für Enzymzusammensetzung und Gesamtaktivität große Bedeutung zukommt. Mehrere Autoren (50, 51) konnten nach Blockade des RES mit Oleaten, Zymosan etc. eine Erniedrigung der LDH-Clearance beobachten. Thorotrast wirkt ähnlich. Auf der Basis dieses indirekten Zusammenhangs kann der Einfluß der "Virocyten" auf den LDH-Serumtyp ebenfalls diskutiert werden.

Bei dem Patienten Vo.F. (Gruppe C) lag eine autoptisch gesicherte Schädigung des RES durch Thorotrasteinwirkung nach Darstellung eines Aneurysmas der linken Arteria femoralis mit 50 ml einer 25 %igen Thorotrastlösung vor. Es war zu erheblicher paravasaler Ablagerung des Kontrastmittels gekommen.

Im Verlauf des stationären Aufenthaltes fiel konstant eine aetiologisch unklare Erhöhung der S-LDH bis max. 777 IE auf. Die LDH-Isoenzymanalyse ergab bei 4-maliger Untersuchung mit insgesamt 12 Auftrennungen jeweils den S-LDH-Typ C. Das Enzymmuster lag dabei in einer sonst nur

bei fortgeschrittenen neoplastischen Prozessen nachweisbaren Ausprägung vor.

Der Exitus letalis erfolgte 27 Jahre nach der Kontrastmittelinjektion (2 Tage nach der letzten S-LDH-Analyse). Bei der Obduktion (Pathologisches Institut der Universität Tübingen. Direktor Prof. Dr.med.A.BOHLE) fand sich folgender Befund: ausgedehnte thorotrasthaltige Narbenplatte im Bereich der linken Leiste. Thorotrastablagerungen in Leber, Milz, Lymphknoten und Knochenmark der Wirbelkörper. Trotz intensiver Untersuchung konnte pathologisch-anatomisch ein Malignomwachstum ni rgends nachgewiesen werden.

Enzymzusammensetzung sowie klinische und autoptische Befunde schließen mit Sicherheit eine Herkunft der Enzymaktivitätserhöhung im Serum aus den üblicherweise dafür verantwortlichen Organen, wie Myocard, Leberparenchym, Nierengewebe und Erythrocyten aus. Auch Organe wie Prostata, Thymus, Milz, Lunge, Knorpel, glatte Muskulatur des Oesophagus und Ureters u.a., von denen ein M-LDH Anteil zwischen 40 und 60 % anzunehmen ist, zeigten autoptisch keine Veränderungen, welche einen vermehrten Enzymverlust hätten verursachen können. Eventuelle Schädigungen hätten jedoch beträchtlich sein müssen, um einen derartigen S-LDH-Aktivitätsanstieg verursachen zu können, da die LDH-Konzentration dieser Organe relativ niedrig ist. Zwei Besonderheiten des Krankheitsbildes sind für das S-LDH-Verhalten von Bedeutung.

1.) Thorotrast schädigt das RES schwer.
2.) Im vorliegenden Fall war möglicherweise mit einem thorotrastbedingten "Praeblastomatosestadium (7) zu rechnen.

ad. 1.)

Der Obduktionsbericht bestätigt eine schwere thorotrastbedingte Schädigung des RES. Die hierdurch bedingte Ver-

minderung der LDH-Clearance aus dem Blutserum erklärt die LDH-Gesamtaktivitätssteigerung. Schwierigkeiten dagegen bereitet die Erklärung des Typ C, da in diesem Falle jeder Hinweis auf einen eventuellen Ausgangsherd für eine den Typ C hervorrufende Enzymeinschwemmung fehlt. In Betracht kommt ein passiver Aufstau der aus der normalen Zellmauserung stammenden S-LDH-Aktivität. Insgesamt enthalt das Körpergewebe mehr M-LDH als H-LDH. Die Tumoren der Untersuchung, welche im Serum einen Typ C hervorriefen, hatten einen durchschnittlichen M-LDH-Anteil von 56,4 %. Einziger Inaktivierungsfaktor bei Annahme eines rein passiven Aufstaus wäre der Alterungsprozeß des Moleküls. Nach Untersuchungen von BOYD (14) läuft dieser für M-LDH schneller als für H-LDH ab. Genaue Zahlen über die Geschwindigkeit, bzw. die Relationen dieses Abbaus sind nicht bekannt. Eine rechnerisch fundierte Abschätzung ist daher nicht möglich.

ad. 2.)

KLINE und CLAYTON (46) sowie JOHNSON und KAMPSCHMIDT (43) wiesen nach intraperitonealer, bzw. peroraler Gabe eines carcinogenen Farbstoffs in der Leber von Ratten LDH-Fraktionen nach, die normalerweise in diesem Organ nicht nachweisbar sind. Dieses Muster war identisch mit dem Muster, das bei induzierten Rattenhepatomen auftrat. Nach längerer Fütterung waren auch morphologisch Hepatome nachweisbar.

An humanen Geweben machten HOCH-LIGETI et.al. (39) ähnliche Beobachtungen. Bei Patienten mit ausgedehntem Tumorbefall fanden sie im Lebergewebe eine erhöhte LDH-Aktivität und eine LDH-Isoenzymverschiebung in Richtung Tumorgewebe, ohne eine morphologische Leberveränderung feststellen zu können. Morphologisch unauffälliges Gewebe war also biochemisch in Richtung eines neoplastischen Wachstums verändert.

Ein Praeblastomatosestadium im Sinne K.H.BAUERS (5) erscheint bei dem Patienten Vo.Fr. möglich. Mit 50 ml Thorotrast (25 %ig) wurde eine relativ hohe Dosis verabreicht. Das von BAUER geforderte Mindestintervall zur Entstehung eines thorotrastbedingten Neoplasmas von 12 - 18 Jahren ist im Falle des Patienten mit 27 Jahren wesentlich überschritten.

Fazit: Ursache ist vermutlich eine Verschiebung im LDH-Isoenzymmuster im Sinne einer malignen Entartung ohne deren histologischen Nachweis. Gegen diese Hypothese spricht jedoch die Tatsache, daß eine signifikante Abweichung vom Normalbefund LDH-Isoenzymuntersuchungen der von Thorotrast besonders befallenen Leber und Milz, sowie des Herzmuskels nicht ergaben. Einschränkend muß auf die geringe Zahl der untersuchten Organe hingewiesen werden. Außerdem konnte die LDH-Analyse erst 96 Stunden post mortem durchgeführt werden.

Gruppe B betreffend muß noch auf den Patienten Wei.R. hingewiesen werden, der zweimal Typ C aufwies. Interessant ist hierbei die häufige Koinzidenz von Tumor und Dermatomyositis. Bei den restlichen Patienten der Gruppe fehlt jeglicher Hinweis auf ein Malignomleiden. Lediglich bei St.M. ist der Befund eines"kontrollbedürftigen" Aderhautnaevus erhoben. Der Typ C konnte jeweils nur einmal nachgewiesen werden. Obwohl sämtliche Serumanalysen Doppelauftrennungen sind, kann die Möglichkeit eines Probeentnahme- oder Laborfehlers nicht ausgeschlossen werden. Nach BOCK et. al. (9) und EGGSTEIN et. al. (20) muß bei biochemischen Analysen im Rahmen der klinischen Diagnose auf Grund von Labor- und Übermittlungsfehlern eine Fehlerrate von 0,5 % (Plausibilitätsprüfung) bis 1,1 % (konventionelle Datenweitergabe) gerechnet werden.

Hier setzt sich die Fehlerquote wie folgt zusammen:

1. Reine Laborfehler im Rahmen des Analysenganges 0,5 % (9)
2. Probeentnahmefehler
3. Übertragungsfehler während der Dokumentation.

Aus methodischen Gründen ist der unter 3. erwähnte Fehler vergrößert zu erachten, als die reinen Laborfehler. Probeentnahmefehler dürften eine untergeordnete Rolle spielen. Betrachtet man alle einmalig nachgewiesenen C-Autrennungen der Gruppen A - C als Fehlbestimmungen und setzt diese zur Zahl aller angefertigten LDH-Analysen in Relation so ergibt sich eine Fehlerquote von 0,33 %. Hierbei handelt es sich jedoch lediglich um die Schätzung der Fehlbestimmung des Musters Typ C.

XVII. DISKUSSION

Für die LDH-Isoenzymauftrennungen kam die Elektrophorese im Agargel zur Anwendung (92), weil bei dieser Technik mit einem vergleichsweise geringen apparativen Aufwand wegen der guten Transparenz des Trägermilieus eine semiquantitative Auswertung des Auftrennungsergebnisses mit relativ hoher Genauigkeit möglich ist. Im Gegensatz zu anderen, nicht elektrophoretischen Techniken (26, 57, 63, 68, 103), die im allgemeinen nur die M-LDH und H-LDH-Anteile an der Gesamtaktivität bestimmen lassen, ist mit dieser Methode eine isolierte Bestimmung der einzelnen Fraktionen möglich. Die fixierten Objektträger sind ohne großen Aufwand archivierbar und können unbeschränkt als Vergleichsmaterial bei Kontrolluntersuchungen benutzt werden. Die Genauigkeit der Methode ist zufriedenstellend. Der Varianzkoeffizient bei der Bestimmung der prozentualen LDH-Isoenzymverteilung ist von der Höhe der Aktivität der Einzelfraktion abhängig und liegt zwischen 1,7 % und 8,8 %. Unberücksichtigt blieb der durch die Nothing-Dehydrogenase hervorgerufene Fehler bei der Bestimmung der Serum-Fraktion LDH I. Definitionsgemäß kommt dieser Fraktion bei der Feststellung des Typ C, der bei dieser Untersuchung ganz im Vordergrund steht, keine Bedeutung zu.

Im Blutserum und im Gewebe kranker und gesunder Personen konnten jweils 5 Isoenzymfraktionen nachgewiesen werden. Dieses Ergebnis war nach der Hybridtheorie zu erwarten. (54) Einzelne Autoren berichten über gelegentlich auftretende weitere Fraktionen (15, 18). Im Rahmen dieser Untersuchungen konnten keine zusätzlichen Fraktionen festgestellt werden.

Mit anderen elektrophoretischen Techniken erzielte Ergebnisse (62, 63, 64, 68, 69, 78, 88, 89, 90, 99, 100) können nur in qualitativer Hinsicht zum Vergleich her-

angezogen werden, da das Auftrennergebnis stark vom Trägermilieu, der Elektrophorese, dem Puffer pH, Wert, der Färbesubstanz, der Pyruvatkonzentration u.a. beeinflußt wird. Unter Berücksichtigung der Eigenarten der jeweils angewandten Technik entspricht die ermittelte LDH-Normalverteilung (siehe Abb. 1) im Serum den von anderen Autoren festgestellten Werten. (48, 107)

Unterschiedlich schnelle Eliminationsgeschwindigkeiten für die einzelnen LDH-Fraktionen aus dem Serum beschrieben MAHEY et. al. (51) und BOYD (14) bei Tieren. BOYD ermittelte dabei bei Schafen eine von LDH I - LDH V im Verhältnis 1 : 7,5 - 15 abfallende Halbwertszeit. Ähnliche Verhältnisse für den Menschen lassen die Ergebnisse dieser Arbeit vermuten, die beim Vergleich des LDH-Verteilungsmusters von Serum und neoplastischen Zellen bei Patienten mit soliden Tumoren ebenfalls abfallende Halbwertszeichen von LDH I nach LDH V ergaben (1 : 32,17). Durch die geringe Fraktionsstärke von LDH V kommt es, bedingt durch die Abhängigkeit des Variationskoeffizienten von der Fraktionsstärke zu einer großen Streuung des Wertes für LDH V. Insgesamt ergaben sich für die Eliminationskonstante, bezogen auf LDH I = 1, folgende Werte:

$$k_1 : k_2 : k_3 : k_4 : k_5 \quad = \quad 1 : 1{,}48 : 4{,}31 : 8{,}4 : 32{,}17$$

Der S-LDH-Typ C tritt bevorzugt bei Trägern von Tumoren mit einem M-LDH-Anteil zwischen 40 und 60 % in Tumorgeweben auf. Bei der Untersuchung von 38 Tumorgewebsproben ergab sich nur bei 34,2 % diese den Serum Typ C begünstigende Zusammensetzung des Gewebes. In Anbetracht dieser Tatsache ist es erstaunlich, daß bei insgesamt 43,6 % der Tumorpatienten der Typ C im Serum gefunden wurde. Begünstigend dürfte hierfür der hohe Anteil von Patienten mit neoplastischen Erkrankungen des myeloischen

Systems im untersuchten Krankenkollektiv sein (30,2 %), da die Zellen der Myelopoese vorwiegend eine den Typ C provozierende LDH-Zusammensetzung besitzt. Weiter erscheint der Prozentsatz nach Abzug der leukämischen Erkrankungen mit 36,0 % immer noch übersteigert, weil nur sechs der dreizehn Patienten der Gruppe mit M-LDH Anteil zwischen 40 % und 60 % im Malignomgewebe den Serumtyp C aufwiesen. Bezogen auf die Patientengruppe, deren Tumorgewebe untersucht wurde, war das Auftreten des Serum Typ C lediglich bei ca. 20 % zu erwarten. Wie oben ersichtlich liegt dieser Prozentsatz in Wirklichkeit jedoch erheblich höher. In diesem Zusammenhang gewinnt das Ergebnis der Verlaufsbetrachtung Bedeutung, daß bei 45,5 % der Patienten, bei denen der Typ C nachgewiesen werden konnte im Wechsel auch andere Serum LDH-Verteilungsmuster nachgeweisen werden konnten. Hier muß berücksichtigt werden, daß, bedingt durch die stark differenten Eliminationsgeschwindigkeiten der einzelnen Isoenzymfraktionen, bei verstärkter, bzw. verminderter Abgabe von LDH aus dem Tumor selbst auch das Isoenzymverteilungsmuster eine Veränderung erfährt. Interessant wäre in diesen Fällen der Nachweis eines hypothetisch denkbaren Zusammenhanges mit der Therapie.

ZONDAG (106, 107) erreichte mit 48 % einen noch höheren Anteil von "Malignitätsmustern" bei Tumorkranken. Ursache hierfür dürfte seine weitergreifende Definition des "Malignitätsmusters" sein. Solche Muster sind bei ihm S-LDH-Zusammensetzungen mit "Steigerung der Relativanteil von Fraktion LDH II - IV". Den Veröffentlichungen ist nicht zu entnehmen ob durch die weitergreifende Definition auch der Anteil falsch positiver Befunde steigt. Bei neoplastischen Erkrankungen des myeloischen Systems beschreibt er bei 69 % der Patienten "Malignitätsmuster", gegenüber 62 % Typ C Muster. Bei den soliden

Tumoren weist ZONDAG auf den Zusammenhang zwischen Tumorausbreitung und "Malignitätsmuster" hin, da in 69 % Metastasen bestanden. Den höchsten Anteil von "Malignitätsmustern" fand ZONDAG bei Patienten mit "generalisierter Carcinomatose" (70 %). Bei Carcinomen konnte der Typ C lediglich in 26,3 % der Fälle nachgewiesen werden. Vermutlich entspricht jedoch ZONDAG's Definition einer"generalisierten Carcinomatöse", Stadium III, bei erhöhter S-LDH, wo sich ein Anteil des Typ C von 73,3 % ergibt. Insgesamt ist bei der Beurteilung der ZONDAG'schen Ergebnisse zu beachten, daß seine Definition des "Malignitätsmusters" weniger differenziert ist, als die des Typ C, da er jede S-LDH-Verteilung mit Erhöhung des Aktivitätsanteiles der Hybridfraktionen (LDH II - IV) als "Malignitätsmuster" bezeichnet. Über den Anteil der falsch positiven Befunde ist der Arbeit nichts zu entnehmen.

Im wesentlichen ebenfalls auf Aktivitätserhöhung in den Isoenzymfraktionen LDH II - LDH IV beruhen insgesamt drei verschiedene "Malignomtypen", die LEHMANN et. al. (48) beschrieben. Genaue Abgrenzung gegen andere Typen geben die Autoren nicht. Als"Malignomtyp IIIa und IIIb" fanden sie sich auch bei unspezifischen Leukozytosen, Pneumonien, endekrinologischen Erkrankungen und Lungenembolie. Von diesen beiden Mustern unterscheidet sich der Typ C jedoch erheblich. Die hier feststellbar Unspezifität erscheint auf den Typ C nicht übertragbar.

Ebenfalls ZONDAG beschrieb, daß in Fällen mit "falsch positivem" Tumormuster, überwiegend handelte es sich dabei um Fälle von Mononucleosis infectiosa, dieses meist einige Tage nach dem auslösenden Ereignis wieder aus dem Serum verschwindet. In der vorliegenden Arbeit wurde bei Mononucleosis infectiosa in drei Fällen Typ C festgestellt. Interessant ist dabei besonders der Patient Me., bei dem am 23. und 26. Krankheitstag der Typ C nach-

gewiesen werden konnte, während bei Kontrolluntersuchungen am 29., 32. und 42. Tag der Typ C nicht mehr nachweisbar war. Da in Fällen von "falsch positivem" Malignommuster im Serum dieses meist nach einigen Tagen nicht mehr nachweisbar ist, scheint die Einschränkung der klinisch-diagnostischen Brauchbarkeit der LDH-Isoenzymanalyse nur gering zu sein. Im konkreten Fall wird man den Befund durch mehrfache Untersuchung des Serums über einen längeren Zeitrum hinweg sichern.

Bei wiederholtem Nachweis des Typ C im Serum innerhalb einer Verlaufskontrolle, muß diesem Befund einer erhebliche Pathognomonität als Tumorindiz zugebilligt werden. Der klinisch-diagnostische Informationswert wird jedoch durch folgende Gesichtspunkte eingeschränkt:

1.) Der Typ C tritt bevorzugt erst in einem relativ späten Krankheitsstadium auf. (Stad. I - 23,5 %, Stadium III = 37 %).

2.) Überwiegend tritt der Typ C bei leukämischen (62 %) sarkomatösen (55 %) und Morbus Hodgkin (46 %) Erkrankungen auf, während er bei den diagnostisch schwierig zu erkennenden Carcinomen (26 %) relativ weniger häufig nachweisbar ist.

3.) Bei 32 von 143 Fällen war Typ C erst nach zum Teil mehrmaligen negativen Voruntersuchungen nachzuweisen.

Insgesamt war der Nachweis des Typ C in 96 % der Fälle eine Bereicherung für die klinische Diagnostik, weil bei 76 % der Patienten ein weiterer Hinweis auf das Vorliegen eines Malignoms bei bestehendem Verdacht gegeben werden konnte und in 1,9 % der Fälle durch den Enzymbefund ein erster Hinweis auf das Vorliegen eines malignen Prozesses erfolgte.

Bei der vorliegenden Untersuchung ist der technische Aufwand und die Belästigung der Patienten gering. Unter Berücksichtigung der oben aufgezeigten Aussagekraft erscheint das beschriebene Untersuchungsverfahren ein sinnvoll anwendbares Hilfsmittel in der Tumordiagnostik zu sein.

XVIII. ZUSAMMENFASSUNG

Das Muster der LDH-Isoenzymfraktionen im Blutserum und in Gewebszytolysaten wurde mit Hilfe eines von WIEME (94) inaugurierten und von FRÖHLICH (21) modifizierten semiquantitativen Verfahrens der Agargel Elektrophorese bestimmt.

Es wurden 2394 Analysen der Serum-LDH bei Patienten mit benignen Erkrankungen und 1021 Analysen bei insgesamt 328 Patienten mit Haemoblastosen und soliden Tumoren vorgenommen. Im Verlaufe der Untersuchung konnte bei Patienten mit Haemoblastosen und soliden Tumoren in auffallender Häufigkeit ein Isoenzymverteilungsmuster mit einer Betonung der Serum-LDH-Fraktionen II - IV festgestellt werden. Dieses Verteilungsmuster wurde Typ C genannt. Exakt wurde der S-LDH-Verteilungstyp C wie folgt definiert:

> Erhöhung der LDH-Fraktionen II - IV, wobei Fraktion IV$\gg$ V sein muß. Beträgt Fraktion V 1 - 3 % der Gesamtaktivität, so muß Fraktion IV mindestens die dreifache Stärke von Fraktion V aufweisen. Liegt der prozentuale Anteil vob Fraktion V über 3 %, so wurde für Fraktion IV mindestens der doppelt hohe Anteil gefordert.

Unter Berücksichtigung jeweils nur der ersten LDH-Auftrennung pro Krankheitsstadium und Patient betrug der prozentuale Anteil der Typ C-Auftrennungen 27,4 %. In 0,71 % der Auftrennungen bei benignen Erkrankungen trat ebenfalls der Typ C auf. Größtenteils verschwand in diesen Fällen das Enzymmuster nach Abklingen des akuten Krankheitsbildes, bei anderen "falsch positiven" Malignommustern war der Befund bei einer Kontrolluntersuchung nicht mehr zu verifizieren. Hier muß an Labor- und Übermittlungsfehler gedacht werden.

Bei der Analyse der LDH-Zusammensetzung von 38 menschlichen Malignomen, zeigte sich eine stark unterschiedliche Enzymzusammensetzung. Zwischen einzelnen histologischen Tumorklassen, wie Sarkomen und Carcinomen, ergab sich, bezogen auf den M-LDH-Anteil keine signifikante Differenz der Verteilungsmuster. In 94,7 % der untersuchten Tumorgewebe überwog der M-LDH-Anteil. Ob hier ein Zusammenhang mit bestimmten Stoffwechselleistungen besteht, läßt sich aus den Befunden nicht ableiten.

In 35 Fällen wurde parallel zum Tumor auch das Serum untersucht, wobei sich bei 7 Patienten der Serum-Typ C fand. Bezogen auf den M-LDH-Anteil war diese Tumorgruppe hochsignifikant von der Restgruppe different, wobei die Tumorgewebe, von einer Ausnahme (70,5 %) abgesehen, jeweils einen M-LDH-Anteil von 40 % - 60 % aufwiesen. Eine Identität zwischen Serum- und Tumormuster bestand bei den Patienten nicht. Anderweitige hierfür verantwortliche Organschäden konnten ausgeschlossen werden.

Mit großer Wahrscheinlichkeit beruht die unterschiedliche Zusammensetzung von Tumorgewebs- und Serum-LDH auf den unterschiedlichen Eliminationsraten der einzelnen Fraktionen aus dem Serum. Unter Voraussetzung dieser Hypothese ergab sich rechnerisch ein kontinuierlicher Anstieg der Geschwindigkeit für die Elimination der LDH von Fraktion I nach Fraktion V. Das ermittelte Verhältnis der Eliminationskonstanten für die einzelnen Fraktionen

$$k_1 : k_2 : k_3 : k_4 : k_5 = 1 : 1{,}48 : 4{,}31 : 8{,}4 : 32{,}17$$

entspricht in seinem kontinuierlichen Anstieg sowie in der gegenseitigen Relation weitgehend den von MAHEY et. al. (51) und BOYD (14) im Tierexperiment festgestellten Werten.

Das Auftreten des S-LDH-Typ C im Serum von Tumorpatienten zeigte sich abhängig von:

1.) der Zusammensetzung der LDH im Tumorgewebe, wobei ein M-LDH-Anteil von 40 % - 60 % das Auftreten des Serum-Typ C begünstigt;
2.) der Ausbreitung des neoplastischen Prozesses (der Anteil der Typ C Auftrennungen steigt von 22,6% im Stadium II auf 37 % im Stadium III);
3.) der Höhe der Gesamtaktivität im Serum (Anteil Typ C Auftrennungen bei normaler S-LDH = 14,8 %, bei erhöhter S-LDH = 53,8 %);
4.) der Art der vorliegenden Malignom-Erkrankung (z.B. leukämische Erkrankungen = 62 %, Sarkome = 55 %, Morbus Hodgkin = 46 %, Carcinome = 26 %).

Insgesamt fand sich bei 43,6 % der Malignom-Patienten (n = 328) der S-LDH-Typ C. Bei 1,9 % der Malignom-Patienten war der Typ C-Nachweis der erste Hinweis auf die Malignom-Erkrankung, bei 7,7 % die Bestätigung eines zuvor geäußerten Malignom-Verdachtes. Bei 90,4 % war die Diagnose bereits zuvor bekannt gewesen.

Mit der oben erwähnten Spezifität für einen neoplastischen Prozeß und der Möglichkeit, mit dieser Methode, wenn auch in begrenztem Umfang, noch unentdeckte Malignome zu erfassen, erscheint die Isoenzymbestimmung der LDH als ein sinnvoll anwendbares Mittel der Tumordiagnostik.

LITERATURVERZEICHNIS

1. AMELUNG, D. :
Fermentdiagnostik interner Erkrankungen.
G. Thieme-Verlag Stuttgart (1964).

2. APELLA, E. and C.L. MARKERT:
Dissociation of lactate dehydrogenase into subunits with guanidine hydrochloride.
Biochem. Biophys. Res. Cummun. 6, 171-176 (1961).

3. BAJOLLE,F., DEVILLE,A. et BOREL, J.P.:
Electrophorèse des isoenzymes de la lactico des hydro-génase (L.D.H.) sur acétate de cellulose.
Rev.Franc.Etud. Clin. Biol. 13/1 93-100 (1968).

4. BAKER, R. and D. GOVAN:
The effect of hormonal therapy of prostatic cancer on serum aldolase.
Cancer Res. 13, 141-146 (1953).

5. BAUER, K.H.:
Das Krebsproblem.
Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer (1963).

6. BETZ, G.H. and P.LELIÈVRE:
Variations of Lactic Dehydrogenase in serum of mice grafted with Sarkoma I.
C.R.Soc.Biol. (Paris) 161/5 1152-1155 (1967).

7. BERGMEYER, H.U.:
Methoden der enzymatischen Analyse.
Weinheim/Bergstraße: Verlag Chemie (1962).

8. BLANCHAER, M.C.:
Electrophoresis of serum lactic dehydrogenase.
Clin. Chim. Acta 6, 272-275 (1961).

9. BOCK, H.E., M. EGGSTEIN, W. KNODEL u.R.ALLNER:
Automatisation im klinisch-chemischen Laboratorium.
Schweiz. Med. Wschr. 97, 35-41 (1967).

10. BODANSKY, O.:
Serum-phosphohexose isomerase in cancer.
Cancer 7, 1200-1226 (1954).

11. BODANSKY, O. and J. SCHOLLER:
Comparison of phosphohexose isomerase and lactic dehydrogenase activities in plasma, liver and tumor tissue of tumor-bearing rats.
Cancer Res. 16, 894-897 (1956).

12. BOHN, L. and N.J. NISSEN:
S-LDH-Isoenzymes in hematological and neoplastic disease.
Nord.Med. 79/9, 275-279 (1968).

13. BOTTOMLEY, R.H., C.A. LOVIG and K.L. EVANS:
Lactic dehydrogenase Isozyme patterns of normal and leukemic leukocytes and plasma.
Proc. Amer. Assoc. Cancer Res. 7, 8 (1966).

14. BOYD, J.W.:
The rates of disappearance of l-lactate dehydrogenase isoenzymes from plasma.
Biochim. Biophys. Acta 132, 221-231 (1967).

15. BUCKELL, M and G.K. BARNES:
Super numerarly fractions of LDH in two malignant gliomas.
Brit. J. Cancer 22/2, 237-243 (1968).

16. BURGESS, E.A. and B. SYLVEN:
Lactic dehydrogenase activity in plasma and intestitial fluid during growth of mouse tumors.
Cancer Res. 23, 714-719 (1963).

17. CAHN, R.D., N.O. KAPLAN, L. LEVINE and E. ZWILLING:
Nature and development of lactic dehydrogenases.
Science 136, 962-989 (1962).

18. DOLGO-SABUROV, V.B. and J.M. MARKELOV:
The isofermental spectrum of LDH, malate dehydrogenase and nothing dehydrogenase isolated from the liver cell structural components (Russian).
Tsitologiya, 10/2, 264-271 (1968).

19. DUBACH, U.C. und D. VORIAKOJIS:
Diagnostische Bedeutung der Lactatdehydrogenase-Isoenzyme (mit Hitzeinaktivierungsmethode).
Schweiz. Med. Wschr. 93, 1196-1200 (1963).

20. EGGSTEIN, M., R. ALLNER, E. KUHLMANN und W. KNODEL:
Vergleich von Autoanalyser-Daten mit nach konventioneller Technik bestimmten klinisch-chemischen Werten.
Klin. Wschr. 44, 424-430 (1966).

21. FRÖHLICH, C.:
Elektrophoretische Isoenzymauftrennungen der Laktatdehydrogenase im Agargel.
Z.Klin.Chem. 3, 137-141 (1965).

22. FRÖHLICH, C.:
Über die Analyse erhöhter Serumenzymaktivitäten der Lactatdehydrogenase bei neoplastischen Erkrankungen mit Hilfe der Isoenzymauftrennung.
Verh.Dtsch. Ges. Inn.Med., 73, 844-847 (1967).

23. FRÖHLICH, C.:
Experimentelle Untersuchungen zur Eliminationsgeschwindigkeit der LDH-Isoenzyme auf dem Blutplasma. LDH-Zusammensetzung in Paraleukoblasten und Malignomen.
Ärztl.Forschung, 25/10, 316-329, (1971).

24. GERHARDT, W.J. CLAUSEN, E. CHRISTENSEN and J.RIISHEDE:
Lactate dehydrogenase isoenzymes in the diagnosis of human benign and malignant brain tumors.
J. Nat. Cancer Inst. 38, 343 (1967).

25. GOLD, J.A.:
Serum enzymes in bronchogenic carcinoma and other pulmonary diseases.
Diseases of the Chest, 39, 62-67 (1961).

26. GOLDMAN, R.D., N.O.KAPLAN and T.C. HALL:
Lactic dehydrogenase in human neoplastic tissue.
Cancer Res. 24, 389-399 (1964).

27. GULLINO, D. et. al. :
Variazioni enzimatiche sieriche nei portatori di tumori maligni.
Nota III. Lattico deidrogenase.
Minerva chir. 16, 274-279 (1961).

28. GUTMAN, E.B. and A.B. GUTMAN:
estimation of "acid" phosphatase activity of blood serum.
J. Biol. Chem. 136, 201-209 (1940).

29. HAUPT, J. und H. GIERSBERG:
Untersuchungen über die Heterogenität und Organspezifität von Enzymen, speziell der Milchsäuredehydrogenase innerhalb der Wirbeltierreihe.
Naturwiss. 45, 268-273 (1958).

30. van der HELM, H.J.:
Simple method of demonstrating lactic acid dehydrogenase isoenzymes.
Lancet II, 108-109 (1961).

31. van der HELM, H.J.:
A simplified method of demonstrating lactic dehydrogenase isoenzymes in serum.
Clin. Chim. Acta 7, 124-128 (1962).

32. van der HELM, H.J., A.H. ZONDAG, PH. HARTOG and M.W. van der KOOI:
Lactic dehydrogenase isoenzymes in myocardial infarction.
Clin. Chim. Acta 7, 540-544 (1962).

33. HESS, B.:
Untersuchungen über die Heterogenität der Serumfermente und ihre Verwendung als organspezifische Indikatoren zellulärer Funktionen.
Klin.Wschr. 36, 985-986 (1958).

34. HESS, B.:
Enzyme im Blutplasma.
Biochemie und Klinik.
Stuttgart: Thieme (1966).

35. HILL, B.R.:
Further studies of the fractionation of lactic dehydrogenase of blood.
Am. N.Y. Acad.Sci. 75, 304-310 (1958).

36. HILL, B.R.:
Electrophoretic fractionation of serum lactic dehydrogenase.
Cancer Res. 21, 271-274 (1961).

37. HINTON, J.M.:
Serum lactate dehydrogenase in bronchial carcinoma.
Thorax 20, 198-199 (1965).

38. HOCH-LIGETI, C.:
Effect of irradiation and operation on serum lactic dehydrogenase and glutamic oxalacetic transaminase in patients with malignant tumors.
Cancer 15, 818-825 (1962).

39. HOCH-LIGETI, C., T.J. BROWN and J.M. ARVIN:
Effect of malignant growth on the Organ Lactic Dehydrogenase in the human.
Cancer 18, 1089-1095 (1965).

40. HSIEH, K.M. and H.T.BLUMENTHAL:
Serum lactic dehydrogenase levels in various disease states.
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 91, 626-629 (1956).

41. HSIEH, K.M., V. SUNTZEFF and E.V. COWDRY:
Comparative study of serum lactic dehydrogenase activity in mice with transplanted and induced tumors.
Cancer Res. 16, 237-239 (1956).

42. JOHNSON H.L. and R.F. KAMPSCHMIDT:
LDH-Isozymes in rat tissue, tumors and pre-cancerous livers.
Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 120, 557-561 (1965).

43. KAMPSCHMIDT. R.F., H.F. UPCHURCH and H.L. JOHNSON:
Plasma enzymes in tumor bearing rats.
Cancer Res. 26, 237-240 (1966).

44. KAY, H.D.:
Plasmaphosphatase. I. Method of determination. Some Properties of the Enzyme.
J. Biol. Chem. 89, 235-247 (1930).

45. KESSLER, F.J. und F.W. BLUMENTHAL:
Experimenteller Beitrag zum Verhalten der Lactat-Dehydrogenase-Aktivität im Blutserum bei der Chemotherapie bösartiger Tumoren mit Endoxan.
Arzn.Forsch. 11, 188-190 (1961).

46. KLINE, E.S. and C.C. CLAYTON:
Lactic dehydrogenase isoenzymes clearing development of 920 dye tumors.
Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 5, 117, 891-894 (1964).

47. KUBOWITZ, F. und P. OTT:
In BERGMEYER, H.U.:
Methoden der enzymatischen Analyse.
Weinheim / Bergstraße: Verlag Chemie (1962).

48. LEHMANN, F.G., K.W. SCHNEIDER, G. SCHERING und V. KOCH:
Enzymelektrophorese bei internen Erkrankungen.
Methodische und klinische Untersuchungen zur differentialdiagnostischen Bedeutung der elektrophoretischen Auftrennung der Lactat-Dehydrogenase in Isoenzyme.
Z.Vitamin. Hormon. Fermentforsch. 14, 301-335 (1967).

49. LEIPOLD, H., H. WÜST und H. SCHÖN:
Bedeutung und Grenzen der quantitativen Fermentdiagnostik im Serum.
Dtsch. Med. Wschr. 86, 1341-1349 (1961).

50. MAHEY, B.W.J. and K.E.K. ROWSON:
Isoenzymic specifity of impaired clearance in mice infected with Riley Virus.
Science 149, 756-757 (1965).

51. MAHEY, B.W.J., K.E.K. ROWSON and C.W. PARR:
Effect of Rileys plasma enzyme elevating virus (RV) on control of plasma enzyme levels in mice.
Biochem. J. 95, 19 P - 20 P (1965).

52. MANSO, C., K. SUGUIRA and F. WROBLEWSKI:
Glutathione reductase and lactic dehydrogenase activities of tissues of rodents with transplanted tumors.
Cancer Res. 18, 682-686 (1958).

53. MARKERT, C.L. and F. MØLLER:
Multiple forms of enzymes: tissue autogenetic and species specific patterns.
Proc. Natl. Acad.Sci. U.S. (Wash.) 45, 753-757,(1959)

54. MARKERT, C.L.:
Lactate dehydrogenase isoenzymes: dissociation and recombination of subunits.
Science 140, 1329-1330 (1963).

55. MARKERT, C.L. and H. URSPRUNG:
The ontogeny of isozyme patterns of lactate dehydrogenase in the mouse.
Develop. Biol. 5, 363-381 (1962).

56. MAYR, K. und F. SCHWEITZER:
Die Bestimmung der Milchsäure-Dehydrogenase-Aktivität zur Differentialdiagnose innerer Erkrankungen.
Wien.Med. Wschr. 112, 505-507 (1962).

57. MEISTER, A.:
Reduction of alpha-gamma-diketo and alpha-keto-acids catalized by muscle preparations and by cristalline lactic dehydrogenase.
H. Biol. Chem. 184, 117-129 (1950).

58. MERTEN, R. und H.G. SOLBACH:
Enzymverteilungsmuster des glykolytischen Systems und Zitronensäurezyklus im Plasma Krebskranker.
Klin. Wschr. 39, 222-232 (1961).

59. NEILANDS, J.B.:
The purity of cristalline lactic dehydrogenase.
Science 115, 143-144 (1952).

60. PALOHEMIO, J.H. and E. IKKALA:
Serum lactic dehydrogenase activity and iso-enzyme patterns in some haematological diseases.
Acta Med. Scand. 177, 115-120 (1965).

61. PFLEIDERER, G. und D. JECKEL:
Individuelle Milchsäuredehydrogenase bei verschiedenen Säugetieren.
Biochem. Z. 329, 370-380 (1957).

62. PFLEIDERER, G. und E.D. WACHSMUTH:
Alters- und funktionsabhängige Differenzierung der Lactat-Dehydrogenase menschlicher Organe.
Biochem. Z. 334, 185-188 (1961).

63. PLAGEMAN, P.G.W., K.F. GREGORY and F WROBLEWSKI:
The electrophoretically distinct forms of mammalian lactic dehydrogenase.
J.Biol. Chem. 235, 2282-2287 (1960).

64. PLAGEMAN, P.G.W., K.F. GREGORY and F. WROBLEWSKI:
die elektrophoretisch trennbaren Lactatdehydrogenasen des Säugetriers. III. Einfluß der Temperatur auf die Lactatdehydrogenasen des Kaninchens.
Biochem. Z. 334, 37-48 (1961).

65. PLASS, R. und K.D. SCHWENKE:
Vergleichende elektrophoretische Untersuchungen von Isoenzymmustern in Extrakten aus Tumor und Normalgewebe, sowie im Serum des Goldhamsters.
Arch. Geschwulstforschung 28, 328-340 (1966).

66. PRESTON, J.A., R.O. BRIERE and J.G. BATSAKIS:
Rapid electrophoretic separation of lactate dehydrogenase isoenzymes on cellulose acetate.
Am. J. Clin. Path. 43, 256-260 (1965).

67. REHN, J. und E.H. KOHNLEIN:
Kritische Beobachtungen über den Wert der S-LDH und S-ALD Bestimmumg zur Carcinomdiagnostik.
Med. Welt 16, 841-843 (1960).

68. RICHTERICH, R. and A. BURGER:
Lactic dehydrogenase isoenzymes in human cancer cells and malignant effusions.
Enzymol. Biol. Clin. 3, 65-72 (1963).

69. RICHTERICH, R. and A. BURGER:
Preferential urea inactivation of electrophoretically slow migrating lactic dehydrogenase isoenzymes.
Helv. Physiol. Pharmacol. Acta 21, 59-64 (1963).

70. ROSE, A., M. WEST and H.J. ZIMMERMAN:
Serumenzymes in disease; V, isocytric dehydrogenasem malic dehydrogenase and glycolytic enzymes in patients with carcinoma of breast.
Cancer 14, 726-733 (1961).

71. SAYRE, F.F. and B.R. HILL:
Fractionation of serum lactic dehydrogenase by salt concentration gradient elution and paper electrophoresis.
Proc. Soc. Exp. Biol. N.Y. 96, 605-607 (1957).

72. SACHS, L.:
Statistische Auswertungsmethoden.
Berlin (uw.), Springer (1968).

73. SHERWIN, A.L. et. al. :
Altered LDH-isoenzymes in brain tumors.
Arch. Neurol. 18, 311-315 (1968).

74. SIBLEY, J.A.:
Significance of serum aldolase levels.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 75, 339-348 (1958).

75. SIBLEY, J.A. and A.L. LEHNINGER:
Aldolase in the serum and tissues of tumor-bearing animals.
J.Nat. Cancer Inst. 9, 303-309 (1949).

76. STARKWEATHER, W.H., R.A. GREEN, H.H. SPENCER and H.K. SCHOCH:
Alterations of serum lactate dehydrogenase isoenzyme during therapy directed at lung cancer.
J.Lab. Clin. Med. 68, 314-323 (1966).

77. TSIRIMBAS, A., K. KRIKELLIS und W. STICH:
Über die Heterogenität der Serum'Lactatdehydrogenase bei meschnlichen Leukämien.
Klin. Wschr. 40, 878-883 (1962).

78. VESELL, E.S. and A.G. BEARN:
Localisation of lactic acid dehydrogenase activitiy in serum fractions.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 94, 96-99 (1957).

79. VESELL, E.S. and A.G. BEARN:
Isozymes of lactic dehydrogenase in human tissues.
J. Clin. Invest. 40, 586-591 (1961).

80. VESELL, E.S. and A.G. BEARN:
Observations on heterogenity of malic and lactic dehydrogenase in human serum and red blood cells.
J. Clin. Invest. 37, 672-677 (1958).

81. WACHSMUTH, E.D. und G. PFLEIDERER:
Biochemische Untersuchungen an kristallinen Isozymen der Lactatdehydrogenase aus menschlichen Organen.
Biochem. Z. 336, 545-556 (1963).

82. WACHSMUTH, E.D., G. PFLEIDERER und T. WIELAND:
Aminosäurenzusammensetzung der Lactatdehydrogenase aus menschlichen und tierischen Organen.
Biochem. Z. 340, 80 (1964).

83. WAKIM, K.G.:
The fate of enzymes in body fluids. - An experimental study. IV. Relationship of the reticuloendothelial system to activities and disappearance rates of various enzymes.
J. Lab. Clin. Med. 61, 107-119 (1963).

84. WARBURG, O.:
Stoffwechsel der Tumoren.
Berlin: Springer (1926).

85. WARBURG, O. und W. CHRISTIAN:
Gärungsfermente im Blutserum von Tumor-Ratten.
Biochem. 2, 314, 399-408 (1943).

86. WEST, M. and H.J. ZIMMERMANN:
Serum enzymes in disease. I. Lactic dehydrogenase and glutamic oxalacetic transaminase in carcinoma.
A.M.A. Arch. of Internal Med. 102, 103-114 (1958).

87. WIDY-KIERSKA, K. and J. ROSZKOWSKI:
LDH-Activity in patients with ovarian tumors.
Obstet. Gynec. (N.Y.) 31/2, 243-246 (1968).

88. WIELAND, T. und G. PFLEIDERER:
Nachweis der Heterogenität von Milchsäuredehydrogenasen verschiedenen Ursprungs durch Trägerelektrophorese.
Biochem. Z. 329, 112-116 (1957).

89. WIELAND, T., G. PFLEIDERER und F. ORTANDERL:
Über die Verschiedenheit der Milchsäuredehydrogenasen. III. Vergleiche der Milchsäuredehydrogenasen aus verschiedenen Rattenorganen.
Biochem. Z. 331, 103-109 (1959).

90. WIELAND, T., G. PFLEIDERER, I. HAUPT und W. WÖRNER:
Über die Verschiedenheit der Milchsäuredehydrogenasen. IV. Quantitative Ermittlung einiger Enzymverteilungsmuster. Vergleichende Betrachtung bei verschiedenen Wirbeltierklassen.
Biochem. Z. 332, 1-10 (1959).

91. WIEME, R.J.:
An improved technique of agar electrophoresis on microscope slides.
Clin. Chim. Acta 4, 317-321 (1959).

92. WIEME, R.J.:
Agar gel electrophoresis.
Amsterdam/ London/New York: Elsevier Publishing Comp. (1965).

93. WIEME, R.J. and M. RABAEY:
A new technic of quantitative ultramicro-electrophoresis.
Naturwiss. 44, 112-113 (1957).

94. WIEME, R.J. and Y.v. MAERCKE:
The fifth (electrophoretically slowest) serum lactic dehydrogenase as an index of liver injury.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 94, 898-911 (1961).

95. WIEME, R.J., M.v. SANDE, D. KARCHER, A. LÖWENTHAL and H.J. van der HELM:
A modified technique for direct staining with nitroblue tetrasolium of lactate dehydrogenase isoenzymes upon agar gel electrophoresis.
Clin. Chim. Acta 7, 750-754 (1962).

96. WILKINSON, J.H.:
Isoenzymes.
London: E. & F.N. Spon. Ltd., 1965.

97. WITHYCOMB, W.A., D.T. PLUMMER and J.H. WILKINSON:
Organ specifity and lactate dehydrogenase activity.
Biochem. J. 94, 384-389 (1965).

98. WÖRNER, W.:
Bedeutung und Grenzen der Bestimmung der LDH-Isoenzyme bei inneren Erkrankungen.
Med. Klin. 59 , 534-541 (1964).

99. WÖRNER, W., H. MARTIN:
Haemolytische oder hepatogene Hyperbilirubinaemie? Ihre Abgrenzung anhand der Heterogenität der Milchsäuredehydrogenase bei hochspannungselektrophoretischer Trennung.
Klin. Wschr. 39, 368-369 (1961).

100. WÖRNER, W. und H. MARTIN:
Die Heterogenität der Milchsäuredehydrogenase (LDH) in den Blutzellen und das Verteilungsmuster der LDH im Serum bei Leukämien.
Proc. 8th Congress Europ. Soc. Haemat. Wien 1961, p.26.

101. WROBLEWSKI, F. and K.F. GREGORY:
Lactic dehydrogenase isozymes and their distribution in normal tissue and plasma and in disease states.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 94, 912-932 (1961).

102. WU, C.P. and J.L. SUNG:
Clinical study of lactic acid dehydrogenase.
Gastroenterology 42, 580-587 (1962).

103. WÜST, H., H. SCHÖN und C. BERG:
ISOENZYME der Lactatdehydrogenase (LDH) und ihre thermische Inaktivierung in der Diagnose innerer Krankheiten.
Klin. Wschr. 40, 1169-1170 (1962).

104. WÜST, H., E. ARNOLD und H. SCHÖN:
Die thermische Inaktivierung von Serum- und Organ-Lactatdehydrogenasen als Methode zur Isoenzymauftrennung.
Klin. Wschr. 43, 500-504,(1965).

105. ZIMMERMANN, H.J. and H.G. WEINSTEIN:
Lactic dehydrogenase activity in human serum.
J. Lab. Clin. Med. 48, 607-609 (1956).

106. ZONDAG, H.A.:
Activity of lactatdehydrogenase in patients with malignant tumors of testis and ovary.
In: Ruyssen, R. and L. Vandendriessche: Enzymes in clinical chemistry.
Amsterdam: Elsevier Publishing Comp. 1965.

107. ZONDAG, H.A.:
Determination and diagnostic significance of lactate dehydrogenase isoenzymes.
Assen: Van Gorcum & Comp., N.V. 1967.

108. ZUPPINGER, K., R. RICHTERICH und E. ROSSI:
Die diagnostische Bedeutung der Heterogenität der Serum-Lactatdehydrogenasen.
Schweiz. Med. Wschr. 92, 189-202 (1962).

109. ZOLLINGER, H.U.:
Pathologische Anatomie Band II - Spezielle Pathologie.
G. Thieme Verlag, Stuttgart, 1968.

Herrn Priv. Doz. Dr. med. Chr. Fröhlich danke ich herzlich für die Überlassung des Themas, sowie für die Anregungen während der Ausarbeitung und die Geduld bei der Fertigstellung.

Frau Prof. Dr. M. P. Geppert, Frau Dr. Böhme und Herrn Dr. Rietsch habe ich für die Hilfe bei den statistischen Berechnungen zu danken.

L E B E N S L A U F

Ich, Wolfgang Walter Hetzer, wurde als Kind des Tech = nikers Walter Hetzer und seiner Frau Anna, geb. Metzger, am 2. Dezember 1942 in Sindelfingen geboren.

Die Schule besuchte ich in Dagersheim, Böblingen, Mannheim und Leonberg. Das Medizinstudium nahm ich 1964 an der Universität des Saarlandes in Saarbrücken auf und legte dort 1965 das Vorphysikum ab. Mit dem Physikum 1967 an der Medizinischen Fakultät in Homburg / Saar endete das vorklinische Studium.

Nach dem ersten klinischen Semester an der Universität Innsbruck / Österreich, setzte ich das Studium an der Eberhard - Karls - Universität in Tübingen fort, wo ich am 29. Januar 1971 das Staatsexamen bestand.